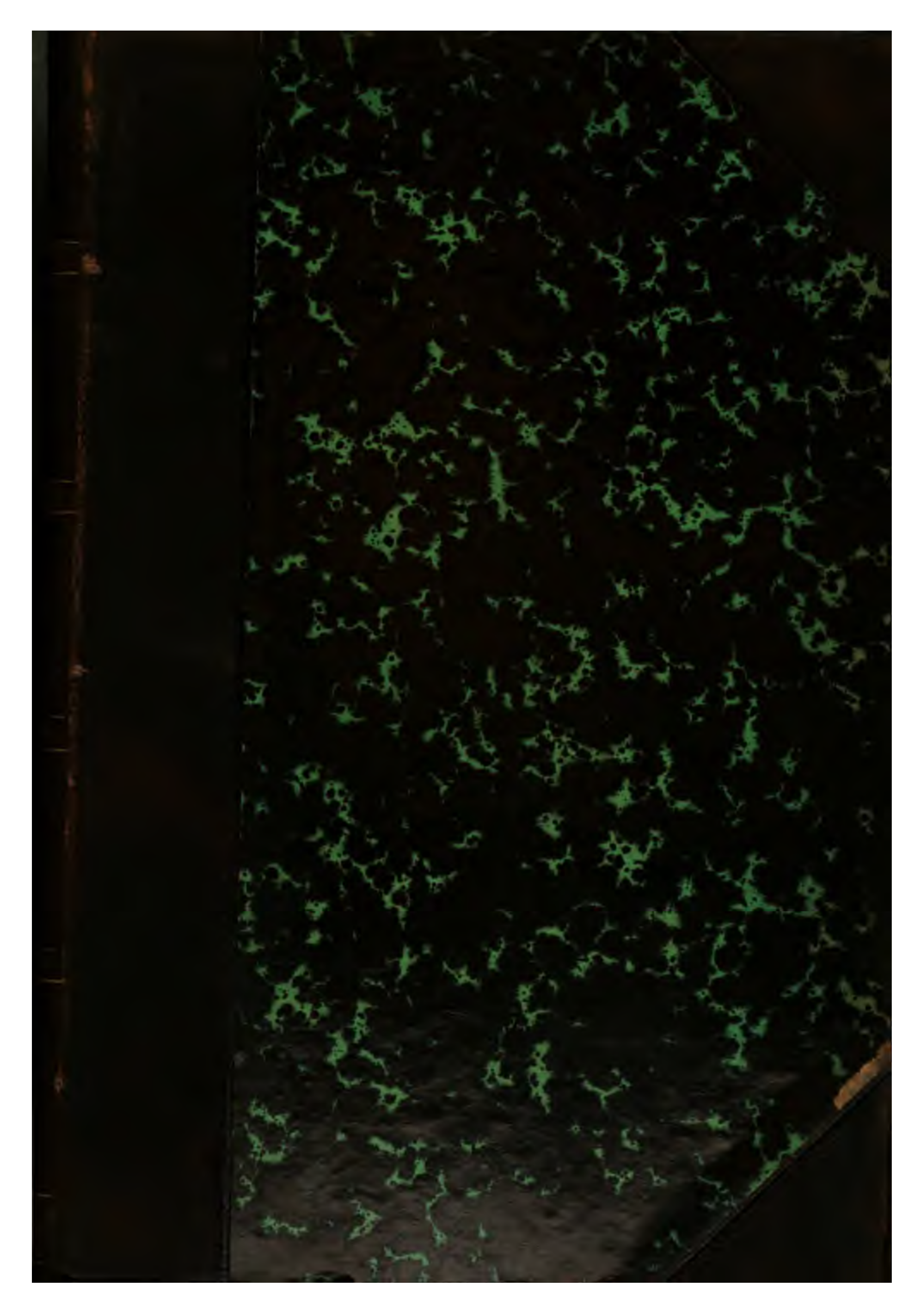


ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

UNTER MITWIRKUNG VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Stabsarzt Dr. H. BUCHNER, München; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Moskau; Prof. Dr. J. v. FODOR, Budapest; Prof. Dr. M. GRUBER, Wien; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. F. RENK, Halle; Oberstabsarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. J. UFFELMANN, Rostock; Prof. Dr. G. WOLFFHÜGEL, Göttingen

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, FR. HOFMANN, M. v. PETTENKOFER, M. RUBNER,

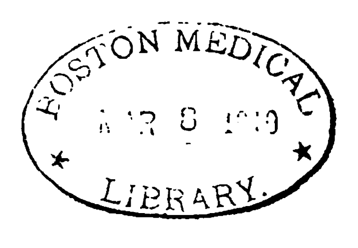
O.Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

AMSTERDAM LEIPZIG MÜNCHEN BERLIN.

NEUNZEHNTER BAND.

MÜNCHEN UND LEIPZIG.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1893.

Inhalt.



Ueber einige zum Zwecke der Artcharakterisirung anzuwendende bacteriologische Untersuchungsmethoden nebst Beschreibung von zwei neuen aus Rheinwasser isolirten Bacterien.

Von

Robert Burri.

(Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. Stutzer in Bonn.)

Im Sommer 1892 führte ich unter der Leitung von Herr Prof. Dr. Stutzer in ausgedehntem Maassstabe quantitativ-bacteriologische Rheinwasseranalysen[1]) aus, bei welchen es sich um das Studium der durch die Abwässer der Stadt Köln verursachten Flussverunreinigung handelte. Bei dieser Gelegenheit beschäftigte ich mich auch mit dem Studium der einzelnen Bacterien-Arten, indem ich die mir auf den Plattenculturen jeweils als anscheinend neu entgegentretenden Colonien in Reincultur nahm und auf deren Wachsthumseigenthümlichkeiten hin untersuchte. Es schwebte mir dabei die Idee vor, sämmtliche aufgefundenen und von einander scharf unterscheidbaren Arten in einer Weise zu beschreiben, dass dieselben beim späteren Wiederauffinden durch andere Versuchsansteller ohne Schwierigkeit erkannt werden könnten. Die Mangelhaftigkeit zahlreicher der vorhandenen Bacterienbeschreibungen einerseits, sodann von gewissen Publicationen sowie von den von Herrn Prof. Stutzer und mir gemeinschaftlich ausgeführten Arbeiten ausgegangene Anregungen anderseits veranlassten mich zunächst auf die methodische Seite differential-diagnostischer Untersuchungen näher einzutreten, als ich es ursprünglich vorgesehen

1) Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege, 1893.

hatte und so wurde denn eine zusammenstellende Beschreibung der in genannter Zeit aufgefundenen Arten vorläufig in den Hintergrund gedrängt.

Eine möglichst genaue Erforschung sämmtlicher in Trinkwässern, Nutz- und Abwässern etc. vorkommenden Bacterienarten ist nicht nur vom rein wissenschaftlichen Standpunkte aus erwünscht, sondern hat auch eine hochwichtige praktische Bedeutung, seitdem man sich, namentlich gestützt auf die bei Gelegenheit der Choleraepidemie vom Sommer 1892 gemachten Erfahrungen, zu der Annahme genöthigt sieht, dass das Wasser als Verbreiter von Infectionskrankheiten verschiedener Art unter Umständen eine Hauptrolle spielen kann. Um ein verdächtiges Wasser darauf hin zu untersuchen, ob es diese oder jene pathogene Bacterienart enthält, ist nicht nur eine genaue Kenntnis der Merkmale der betreffenden Art erforderlich, sondern es ist im höchsten Grade wünschenswerth, auch diejenigen Formen, welche in morphologischer und biologischer Beziehung ein der gesuchten pathogenen Art ähnliches Verhalten zeigen, sicher zu erkennen und von den letzteren unterscheiden zu können. Dass sich unsere Kenntnisse in dieser Richtung noch in den ersten Anfängen befinden, hat sich bei Gelegenheit der Choleraepidemie von 1892 recht deutlich gezeigt. Während bis dahin in den Lehrbüchern unter den dem Kommabacillus ähnlichen Formen nur das Finkler'sche Spirillum, der Vibrio Metschnikoffi und das Dencke'sche Käsespirillum aufgeführt wurden, sind jetzt eine ganze Reihe von Forschern mit Publicationen hervorgetreten, welche dem Koch'schen Kommabacillus mehr oder weniger ähnliche Formen behandeln, die bei Gelegenheit von Untersuchungen zum Zwecke des Nachweises des Ersteren gefunden worden sind und bis jetzt noch nicht bekannt waren. Ich erinnere hier kurz an die Mittheilungen von Buywid[1]), Weibel[2]), Löffler[3]) und Fokker[4]).

---

1) C. f. Bact. u. P., Bd. XIII, S. 120.

2) Dasselbe S. 117.

3) Dasselbe S. 380.

4) Deutsche med. Wochenschr., 1893, Nr. 7.

In anderer Hinsicht ist die Kenntnis der nicht pathogenen Bacterien ebenfalls von grosser Bedeutung, nämlich für die Beurtheilung der Qualität eines Trink- oder Nutzwassers. Man ist längst davon abgekommen, ein Wasser nach der Zahl der in einem Cubikcentimeter desselben enthaltenen entwickelungsfähigen Keime zu schätzen und von verschiedenen Seiten ist schon betont worden, dass neben der Anzahl auch namentlich die Art der im untersuchten Wasser enthaltenen Bacterien zu berücksichtigen sei, (Migula[1]), Gärtner[2]), Dahmen[3]). Diese Aufgabe wird nun nicht in dem Sinne zu verstehen sein, dass die in irgend einem zu untersuchenden Trink und Nutzwasser aufgefundenen Arten rein gezüchtet werden, um ihre Identität festzustellen; es handelt sich vielmehr darum, an Hand von gewissen Merkmalen, die eine ganze Gruppe von Bacterien kennzeichnen, diese letzteren zu erkennen und so auf die Herkunft und Natur von Verunreinigungen schliessen zu können, die dem betreffenden Wasser anhaften. Es wird z. B. gelingen, auf dem angedeuteten Wege zu entscheiden, ob ein Brunnenschacht oder ein unterirdischer Wasserlauf gegen in der Nähe befindliche Düngergruben und dergl. dicht abgeschlossen ist oder nicht, ob Brunnen von gewissen Abwässern industrieller Anlagen verunreinigt sind u. s. w. In diesem Sinne wird in Zukunft die bacteriologische Wasseranalyse in Fällen, wo es sich nicht direct um Verdacht auf irgendwelche pathogene Keime handelt, ausgeführt werden müssen. Dafür bedarf es eines eingehenden Studiums der morphologischen und biologischen Eigenthümlichkeiten der einzelnen Arten sowie ganzer Gruppen und liegt in dieser Richtung ein ungeheures Arbeitsfeld fast noch unbebaut da. Als einen bedeutenden Fortschritt auf diesem Gebiete muss es bezeichnet werden, wenn man in neuester Zeit den chemischen Verhältnissen des Bacterienlebens und speciell der chemischen Zusammensetzung der angewendeten künstlichen Nährböden mehr Beachtung schenkt, als es bisher geschehen ist.

1) C. f. Bact. u. P., Bd. VIII, S. 353.

2) Die chemische und mikroskopische bact. Untersuchung des Wassers, 3. Aufl., 1889, S. 579.

3) C. f. Bact. u. P., Bd. XII, S. 302.

Reihen von Bacterienbeschreibungen, die den Zweck verfolgen, die zahlreichen Arten der in verschiedenen Wässern, namentlich in Brunnen- und Leitungswässern vorkommenden Bacterien aus einander zu halten und deren Identificirung für spätere Untersucher zu ermöglichen, existiren bis jetzt in geringer Anzahl. Es sind theils Originalarbeiten, theils Sammelarbeiten, welche demjenigen, welcher sich mit qualitativ-bacteriologischen Untersuchungen beschäftigt, die Arbeit zu erleichtern bestimmt sind dadurch, dass die in der Literatur zerstreuten und höchst mühselig aufzufindenden Bacterienbeschreibungen in übersichtlicher Weise zusammengestellt wurden. Ganze Serien von Originalbeschreibungen verdanken wir Maschek, Adametz, Bolton, Frankland, Flügge, Zimmermann u. a. Das mit genauen Literaturnachweisen versehene Sammelwerk von Eisenberg[1]), welcher das in den Originalarbeiten genannter und anderer Forscher enthaltene Material für den praktischen Gebrauch zusammenstellte, macht die zum Theil schwer zugänglichen angeführten Originalarbeiten in den meisten Fällen entbehrlich. Hingegen bildet die deutsche Uebersetzung der »Diagnostica dei batteri delle acque« von A. Lustig[2]) eine theilweise Ergänzung des Eisenberg'schen Buches. In den beiden letztgenannten in Tabellenform zusammengestellten Werken konnten zwei neuere Inauguraldissertationen noch nicht verwerthet werden, nämlich die Bearbeitung der Freiburger Leitungswässer von Tils[3]), welcher sich veranlasst sah, vier neue Formen aufzustellen und die Arbeit über »die Dorpater Wasserbacterien« von Tataroff[4]), welcher bei seinen Untersuchungen ebenfalls verschiedene von ihm beschriebene Formen als neu in Anspruch nahm.

Bei meinen differential-diagnostischen Untersuchungen bediente ich mich nebst der letztgenannten Originalarbeiten meistens der dritten Auflage der Eisenberg'schen und der zweiten der

1) Bacteriologische Diagnostik, 3. Aufl., 1891.

2) Diagnostik der Bacterien des Wassers, 2. Aufl., 1893.

3) Z. f. Hyg., Bd. IX, S. 282.

4) Inaug.-Diss., Dorpat 1891.

Lustig'schen Diagnostik. Indessen wurden in besonderen Fällen auch die übrigen Originalarbeiten sowie vereinzelte Literaturangaben, soweit sie mir zugänglich waren, zum Vergleiche herangezogen. Es gelang mir im Laufe des Sommers 1892 56 von einander scharf unterscheidbare Bacterienarten zu isoliren. Wie ich aber Eingangs zu bemerken Gelegenheit hatte, bewogen mich gewisse Gründe, die Veröffentlichung des diesbezüglichen Materials noch zu verschieben und werde ich den Haupttheil dieser Abhandlung einer Besprechung einiger Gesichtspunkte und Untersuchungsmethoden widmen, welche nothwendigerweise herangezogen werden sollten, um eine Bacterienart als solche richtig zu charakterisiren.

Anhangsweise lasse ich sodann die Beschreibung von zwei Bacterienformen folgen, welche ich aus Rheinwasser isolirt habe und an Hand der mir zugänglichen Literaturangaben nicht mit schon beschriebenen Arten identificiren konnte.

Die Charakterisirung einer Bacterienart wird im Allgemeinen eine um so vollständigere und präcisere sein, je zahlreicher die Gesichtspunkte sind, unter welchen die morphologischen und biologischen Verhältnisse studirt wurden. Bekanntlich gibt das morphologische Verhalten des einzelnen Individuums, ebenso wie dessen Lebensäusserungen, soweit diese dem bewaffneten Auge zugänglich sind, sehr wenig Anhaltspunkte, die für eine genaue Bestimmung der Art verwendet werden können. Das unumgänglich nothwendige Mittel zur sicheren Charakterisirung der Art liegt in der Reincultur, welche nach Einführung der durchsichtigen festen Nährböden nach Koch auf so einfache Weise herzustellen ist und auf deren Principien der grossartige Aufschwung der bacteriologischen Wissenschaft im verflossenen Jahrzehnt überhaupt beruht. Von der Reincultur ausgehend werden wir in den Stand gesetzt, eine Fülle von morphologischen, physikalischen und chemischen Verhältnissen in den Kreis unserer Beobachtung zu ziehen und so von den Eigenschaften, welche irgend einer Bacterienart zukommen, uns fast beliebig viele zu erschliessen. Die Anwendung der Koch'schen Plattenmethode

hat in der That auch die Erforschung der Wasserbacterien in ganz neue Bahnen gelenkt und nur derselben ist es zu verdanken, dass eine ganze Reihe von Bacterien, wie z. B. das alte Bacterium termo, die früher als einheitliche Art betrachtet wurden, in physiologisch ganz verschiedene Typen zerlegt werden konnten.

Beim Durchgehen der vorhandenen Arbeiten über Wasserbacterien machen sich bei einer grossen Zahl von Bacterienbeschreibungen gewisse Mängel auffällig bemerkbar, und zwar ist es in erster Linie, und namentlich bei ältern Arbeiten, eine mehr oder minder ausgeprägte Unvollständigkeit in der Aufzählung charakteristischer Merkmale, welche in einzelnen Fällen so weit geht, dass auch die gegebenen positiven Angaben unverwerthbar sind. Jeder, der Gelegenheit hatte, sich von dem wissenschaftlichen und praktischen Werthe solcher Beschreibungen zu überzeugen, empfindet das Bedürfnis nach etwas Besserem, Vollständigerem, und ist es nur natürlich, wenn sich namentlich in den neuern Arbeiten ein Bestreben nach Vielseitigkeit und Gründlichkeit in der Aufnahme der Eigenschaften geltend macht. Die Beschreibungen in der Arbeit von Tils (l. c.) dürften immerhin noch als zu knapp gehalten bezeichnet werden, während diejenigen von Zimmermann (l. c.) und Tataroff (l. c.) und namentlich auch die in der 3. Auflage von Lustig's Diagnostik von diesem Autor selbst herstammenden, sich durch vielseitige und exacte Angaben auszeichnen.

Neben der Unvollständigkeit in der Angabe der Eigenschaften der beschriebenen Formen leiden aber die meisten Bacterienbeschreibungen, und bisweilen auch die recht ausführlich gehaltenen, an einem andern Fehler; sie lassen sich nicht controliren resp. vergleichen, welcher Uebelstand namentlich davon herrührt, dass man erst in neuester Zeit der chemischen Zusammensetzung der Nährböden die Aufmerksamkeit zu schenken beginnt, die diesem Momente gebührt. Recht geringfügige Schwankungen in der angegebenen Beziehung können nämlich auf das Wachsthum einer Cultur, auf die Farbenentwickelung derselben u. s. w. einen bedeutsamen Einfluss ausüben, und so kommt es zu häufig vor, dass ein Forscher für

irgend eine Bacterienart gewisse, ganz bestimmt umschriebene Culturmerkmale aufstellt, während ein Anderer, der die ganz gleiche Form unter Händen hat, zu abweichenden Resultaten gelangt, nur weil er einen in der Zusammensetzung etwas verschiedenen Nährboden verwendet. Wohl die meisten Differenzen ergeben sich aus der abweichenden Reaction der Nährsubstrate, die nach den neuesten Forschungen, auf die ich in einem besonderen Abschnitt zu sprechen kommen werde, eine geradezu unerwartet hohe Bedeutung einzunehmen scheint. Abgesehen von denjenigen Fällen, in welchen ein Vergleich mit irgend welchen Angaben wegen ungenügender Kenntnis des von dem betreffenden Autor verwendeten Nährbodens unsicher ist, findet sich in sehr vielen Bacterienbeschreibungen eine Menge von Angaben, die nur relativen Werth haben, z. B. Messungen ohne Angabe der Herkunft des Materials, ob aus Platten- oder Bouillonculturen, sodann Zeitangaben über Schnelligkeit der Verflüssigung ohne die dazugehörige Temperaturangabe und dergl., alles Mängel, die geeignet sind, das Diagnostiziren in zeitraubender Weise zu erschweren und den Werth der an Hand von so unsicheren Angaben gewonnenen Resultate herabzudrücken.

Einfluss der Reaction des Nährbodens auf das Wachsthum der Bacterien.

Bis in neuester Zeit begnügte man sich damit, von den für die Culturen verwendeten Nährböden eine neutrale oder schwach alkalische Reaction zu verlangen, ausgehend von der Annahme, dass eine solche dem Wachsthum der Bacterien am zuträglichsten sei. Diesbezügliche Untersuchungen neuern Datums zeigten aber, dass vielen Bacterien mit der Forderung eines solchen Nährbodens nicht genügt ist und dass eine ganze Anzahl derselben weder einen neutralen noch schwach alkalischen Nährboden liebt, sondern zum Theil einen solchen von relativ hohem Alkaligehalt, zum Theil sogar einen sauren verlangt. Reinsch[1]) machte die Beobachtung, dass die Zahl der in

1) C. f. Bact. u. P., Bd. X, S. 415.

Elbewasser pro Cubikcentimeter gefundenen Bacterien innerhalb bedeutender Intervalle schwankte, wenn er seiner für die Plattenaussaaten benützten Gelatine wechselnde Mengen von Soda zusetzte. Bei einer seiner Versuchsreihen erhielt dieser Forscher durch Zusatz von 0,1 % Soda sogar mehr als das 6fache der Anzahl der mit schwach alkalischer Gelatine erhaltenen Colonien. Das Optimum für den Sodazusatz schien im Allgemeinen zwischen 0,1 und 0,2 % zu liegen.[1])

Max Dahmen[2]) suchte dann in ähnlicher Weise für Rheinwasser das Optimum des Sodagehaltes festzustellen und dabei, indem er mit kleineren Quantitäten von Soda arbeitete, die von Reinsch gefundenen Werthe enger abzugrenzen. Seine Resultate stimmten mit denjenigen von Reinsch überein, da sich eine Optimalzahl ergab, welche innerhalb der von Reinsch gefundenen Optimalwerthe lag. Dahmen erhielt nämlich die grösste Zahl von Colonien bei Anwendung einer 0,15 %igen Soda-Gelatine.

Zu gleichem Zwecke untersuchte ich das Bonner Leitungswasser und kam dabei zu folgenden Resultaten:

Ich legte diesen Versuchen den von Dahmen angegebenen Optimalwerth von 0,15 % krystallisirter Soda (entsprechend 0,05 % wasserfreie Soda) zu Grunde und wich von demselben nach oben und unten um nur geringe Werthe ab, nämlich um Hundertstelprocente. Verwendet wurde für die Plattenaussaat eine nur Spuren freies Alkali enthaltende 10 %ige Fl. W.-Peptongelatine, welcher nach dem Schmelzen die nöthige Sodaquantität mit sterilisirter Pipette zugegeben wurde. Für jede der verwendeten 5 Concentrationen wurden 2 Platten (a und b) gegossen.

---

1) Die aus den Arbeiten von Reinsch und Dahmen citirten Optimalwerthe beziehen sich auf krystallisirte Soda, von welcher 100 Gewichtstheile = 37,063 Gewichtstheilen wasserfreier Soda entsprechen. Weil ich es im Interesse der Genauigkeit vorzog, mit titrirten Lösungen zu arbeiten, so beziehen sich die hier und an späteren Stellen gegebenen Werthe auf wasserfreie Soda (Na_2CO_3). Dieses ist noch besonders bemerkt, wo allenfalls Missverständnisse entstehen könnten.

2) Chemiker-Zeitung, Bd. XVI, 1892, Nr. 49.

Die Culturen standen bei 22° im Thermostaten und die Colonien wurden nach 4 × 24 Stunden gezählt.

Bei Zugabe	von	0,03 %	Soda	wuchsen	in	a 34 Col.	Mittel 37 Col.
»	»	0,03 %	»	»	»	b 40 »	
»	»	0,04 %	»	»	»	a 47 »	» 42 »
»	»	0,04 %	»	»	»	b 37 »	
»	»	0,05 %	»	»	»	a 53 »	» 51 »
»	»	0,05 %	»	»	»	b 49 »	
»	»	0,06 %	»	»	»	a 40 »	» 43 »
»	»	0,06 %	»	»	»	b 47 »	
»	»	0,07 %	»	»	»	a 40 »	» 37 »
»	»	0,07 %	»	»	»	b 34 »	

Wenn auch durch den Unterschied von 1/100 % Soda sich nicht sehr bedeutende Differenzen ergaben, was mit der überhaupt geringen Anzahl der Keime des verwendeten Wassers zusammenhängt, so lag doch das günstigste Ergebnis bei 0,05 % Sodazugabe, was mit den obigen Angaben vollkommen übereinstimmt.

Es unterliegt nach Vorhergehendem keinem Zweifel, dass unter den Wasserbacterien eine jede Art ihr Optimum von Alkali verlangt, um in möglichst kurzer Zeit zur sichtbaren Entwickelung zu kommen. Selbstredend wird eine Art auf einem Nährboden, dessen Alkalinität das Optimum nach unten oder oben überschreitet, sich immerhin entwickeln, aber die Entwickelung ist eine gehemmte, zum Mindesten verlangsamte, und diese Art wird umsomehr unter dem Einfluss des ihr nicht zusagenden Nährbodens zu leiden haben, je mehr andere Colonien in nächster Nähe sich befinden, denen der betreffende Nährboden die denkbar günstigsten Existenzbedingungen bietet. Es ist dies ein Fingerzeig für die Wasseranalyse; denn wenn auch die einzelnen Brunnen- und Leitungswässer unter sich und noch mehr im Gegensatz zu Flusswasser in Bezug auf das Optimum des Alkaligehaltes der Nährgelatine gewisse Abweichungen zeigen werden, so ist es doch erwünscht, auf Grund eines grösseren Untersuchungsmaterials sich eine mittlere Optimalzahl zu construiren,

auf welchen Gehalt dann immer die zu quantitativ-bacteriologischen Wasseruntersuchungen verwendete Gelatine einzustellen wäre. Es würde ein solches einheitliches Verfahren von höchstem Interesse sein für vergleichende Untersuchungen ein und desselben Wassers zu verschiedenen Zeiten als auch für Vergleichungszwecke zwischen Wasseruntersuchungen, die an verschiedenen Orten zu verschiedenen Zeiten ausgeführt worden sind.

Ganz auffallende Ergebnisse hat das Studium des Alkalibedürfnisses beim Bacterium der asiatischen Cholera zu Tage gefördert.

Max Dahmen[1]) machte seinerzeit bekannt, dass Kommabacillen am besten auf einer Nährgelatine gedeihen, die 1 % Soda enthalte und fügt bei, dass gewiss ein Theil der bei Gelegenheit der letzten Choleraepidemie negativ ausgefallenen Untersuchungsergebnisse auf Anwendung von neutraler oder zu schwach alkalischer Gelatine zurückzuführen sei.

Nach den von Prof. Stutzer und mir vorgenommenen Untersuchungen[2]) wurden die Dahmen'schen Resultate im Allgemeinen bestätigt, allerdings mit der Einschränkung, dass die von diesem Autor angegebenen Zahlen nur für frische, d. h nicht längere Zeit auf künstlichen Nährböden weitergezüchtete Culturen gültig sind. Bei einer uns von Herrn Dr. Dahmen selbst gütigst überlassenen Cultur lag das Optimum des Sodazusatzes zwischen 0,2 und 0,3 %, nach den betreffenden Culturplatten zu urtheilen sogar näher bei 0,2 %, während Dahmen als Optimalzahl 1 % krystallisirte Soda entsprechend 0,37 % wasserfreie Soda angibt. Als uns sodann durch die Güte von Herrn Prof. Rumpf bei Gelegenheit der Hamburger Epidemie ganz frische Choleraculturen übermittelt wurden, nahmen wir auch mit diesen eine Prüfung in Bezug auf das Sodabedürfnis vor und konnten nun die Dahmen'schen Angaben vollständig bestätigen; wir erhielten sogar noch bei 0,8 % Sodazusatz (entsprechend 2,15 % krystallisirter Soda) allerdings sehr wenige und langsam wachsende, aber normal aussehende Colonien.

---

1) C. f. Bact. u. P., Bd. XII, S. 620.

2) C. f. Hyg., Bd. XVI.

Für das Studium des Sodabedürfnisses hatten wir uns des Plattenverfahrens bedient. Der Sodazusatz wurde dadurch bewerkstelligt, dass nach Verflüssigung der eine Spur alkalischen Gelatine unmittelbar vor dem Impfen derselben diejenige Menge einer starken Sodalösung von bekanntem Gehalt mit steriler Pipette zugegeben wurde, dass der gewünschte Procentgehalt, auf das Volumen des Gläscheninhaltes bezogen, resultirte. Man könnte sich übrigens auch direct Gelatinen mit höherem Sodagehalt herstellen, welche, wie ich mich überzeugt habe, als sehr klares und hellfarbiges Product erhalten werden können. (Die von C. Fränkel in dessen Grundriss der Bacteriologie ausgesprochene und von N. K. Schulz[1]) wiederholte Vermuthung, dass das bisweilige Trübebleiben der Gelatine auf zu starke Alkalescenz zurückzuführen sei, wäre hierdurch nicht bestätigt.) Bei den oben erwähnten Versuchen war lediglich der bequeme Wechsel im Alkaligehalte unter Benutzung einer Gelatine von im Uebrigen gleicher Zubereitung ausschlaggebend.

Die schwerwiegende Bedeutung der alkalischen Reaction speciell für Cholera hat sich noch in anderer Richtung bei Gelegenheit der Epidemie vom Sommer 1892 geltend gemacht. In Nr. 2 Bd. XIII des Centralblattes für Bacteriologie und Parasitenkunde berichtet Kranhals, dass es ihm bei Reinculturen des Kommabacillus, die er beim Studium von mehreren typisch verlaufenen Fällen in Riga gewonnen hatte, nicht gelungen war, Kartoffelculturen zu erzielen, wie sie in den einzelnen systematischen Beschreibungen verlangt waren. In seinem Aufsatze stellt Kranhals die von einer ganzen Anzahl von Autoren gegebenen angeblich characteristischen Merkmale der Choleraculturen zusammen und weist auf die bedeutenden Abweichungen in den einzelnen Beschreibungen hin. Er kam auf den Gedanken, seine Kartoffeln, die meistens schwach sauer reagirten, zu neutralisiren bezw. zu alkalisiren und erhielt nun das überraschende Resultat, dass er auf denselben nicht nur bei Blut-, sondern auch bei Zimmertemperatur üppiges Wachsthum erzielte. Das Alkalisiren

---

1) C. f. Bact. u. P., S. 52.

der Kartoffeln wurde entweder so vorgenommen, dass die betreffenden Kartoffelscheiben mit einer 1 bis 2 %igen Lösung von Natron bicarbon. beträpfelt wurden, so lange noch Aufsaugung wahrzunehmen war, oder es wurde auf den Boden der zu den Culturen verwendeten Glasdosen so viel von dieser Lösung gegeben, dass dieser kaum eben bedeckt war. Das Wachsthum der Kommabacillen auf so zubereiteten Kartoffeln wird von genanntem Verfasser folgendermaassen geschildert: »Von der Impfstelle aus entwickelte sich ein anfänglich schmutzigweisser, dann (bei 38° C. oft schon nach 24 Stunden, bei 16 bis 18° C. bei 3 bis 4 × 24 Stunden) gelblich oder blassröthlich sich färbender Pilzrasen, der bei weiterem Wachsthum bald eine deutlich rothe, dann schön rothbräunliche Färbung annahm und in ca. 2 bis 3 Wochen die ganze Kartoffelschale überzog. Ein solcher Pilzrasen besitzt einen starken Glanz und eine rahmige, nicht fadenziehende Consistenz.«

Neben diesen alkalisirten Kartoffeln hatte Kranhals noch eine ganze Reihe von solchen geimpft, die sämmtlich sauer reagirten und verschiedenen Sorten angehörten. Von 136 geimpften sauren Scheiben lieferten aber nur vier ein einigermaassen charakteristisches, dem klassischen Rotzbacillen ähnlichen Rasen entsprechendes Wachsthum, aber wie eine nachträgliche Prüfung der Reaction ergab, waren diese vier Scheiben spontan alkalisch geworden. Mit Recht weist Kranhals am Schlusse seines Aufsatzes auf das Bedenkliche einer Methode hin, die sich eines Nährmaterials von so inconstanter Beschaffenheit bedient, wie es die Kartoffel ist und sieht sich veranlasst, folgende Vorschläge zu machen:

»Bei Angabe des Kartoffelwachsthums eines Mikroorganismus ist zu notiren:

1. Die Sorte der benutzten Kartoffeln;

2. die Reaction derselben nach stattgehabtem Beginn des Wachsthums eines Pilzrasens;

3. das Verhalten der gleichen Bacterien auf künstlich alkalisirten Kartoffeln.«

Nun dürfte es aber von geringem praktischen Werth sein, bei Mittheilungen über das Wachsthum irgend welcher Bacterien auf Kartoffeln immer die betreffende Kartoffelsorte anzugeben, indem damit die Vergleichung von Angaben verschiedener Quellen noch nicht ermöglicht wird. Es schien mir in Anbetracht der Resultate der Kranhals'schen Untersuchungen vielmehr gerathen, auf die Kartoffeln mit ihren variablen Eigenschaften, wie sie uns von der Natur geboten werden, ganz zu verzichten und dieselben zum Vorneherein in Bezug auf die Reaction immer einer Vorbehandlung zu unterwerfen. Dabei fragte ich mich ob es nicht möglich wäre, eine Kartoffel von bestimmtem Alkaligehalt und für besondere Fälle auch von bestimmtem Säuregehalt herzustellen, ähnlich wie wir das mit den künstlichen Nährböden vorzunehmen genöthigt sind. Es wäre ein solches Verfahren im Interesse der Vergleichung von Beobachtungen verschiedener Versuchsansteller höchst wünschenswerth. In Verfolgung dieses Gedankens stellte ich die nachfolgend beschriebenen Versuche an:

Ich schicke voraus, dass ich mich seit längerer Zeit für Kartoffelculturen der Culturröhrchen nach Bolton, resp. Globig bediene, nachdem ich die Beobachtung gemacht hatte, dass bei solchen Röhrchen die Gefahr einer zufälligen Verunreinigung von Aussen viel geringer ist, als bei Anwendung der sonst gebräuchlichen Glasdosen nach v. Esmarch. Ich verwende dabei die Röhrchen recht weit, 25—28 mm, um der Kartoffel eine genügend grosse Impffläche geben zu können. Die Kartoffelstücke, mit denen die Glasröhrchen beschickt werden sollen, steche ich mir nicht mit dem cylindrischen, korkbohrerartigen Instrument heraus, sondern ich schneide mir mit reinem Messer prismatische Stücke zurecht, die in der oberen Hälfte nicht so schnell austrocknen wie die gebräuchlichen Cylinderhälften. Um mir nun einen alkalischen Kartoffelnährboden zu bereiten, reinigte ich die Knollen in vorschriftgemässer Weise und schnitt dann die prismatischen Stücke heraus. Von diesen legte ich 20 in ein Becherglas, das ³/₄ l einer 0,05 % starken Sodalösung enthielt, ein andermal die gleiche Anzahl in ein Becherglas mit ³/₄ l

einer 0,3 %igen Sodalösung. Ich überlegte dabei folgendermaassen: Selbst in den ¾ l der sehr schwachen Sodalösung ist immer noch eine Menge freies Alkali enthalten, welches im Verhältnis zu der geringen Menge der in den Kartoffelprismen enthaltenen freien Säure genügend gross ist, um die letztere zu neutralisiren und dabei doch nur um einen geringen, leicht zu vernachlässigenden Werth an Gehalt abzunehmen. Gelingt es nun, die Kartoffeln mit einer Lösung von bestimmtem Gehalt zu imprägniren, so werden dieselben in gleichen Volumina annähernd gleich grosse Mengen von Soda enthalten; ebenso werden sich mit verschiedenen Lösungen von bestimmtem Gehalt behandelte Kartoffeln in Bezug auf den Grad ihrer Alkalescenz annähernd zu einander verhalten, wie die Concentrationen der angewendeten Lösungen.

Zuerst suchte ich diese Imprägnation auf kaltem Wege zu erreichen, indem ich die Prismen 2 Stunden in der genannten Lösung liegen liess. Eine Prüfung auf die Reaction der mit der schwachen Lösung behandelten Kartoffeln überzeugte mich aber, dass dieselbe nur in die alleräussersten Zellschichten eingedrungen war; denn nur die Oberfläche solcher Stücke gab deutlich alkalische Reaction, während die frische Schnittfläche schwach sauer reagirte. Bei den mit 0,3 % Soda behandelten Kartoffeln war das letztere auch der Fall, nur reagirte hier die Oberfläche selbstverständlich stark alkalisch. Nach diesem erfolglosen Versuche verfuhr ich in der Weise, dass ich das Becherglas mit den Kartoffelprismen in der Sodalösung in den Dampftopf stellte und von dem Moment ab, in welchem die Temperatur von 100 ° C. erreicht war, ½ Stunde stehen liess. Nach dieser Zeit hatte, wie es schien, die Sodalösung allzu stark gewirkt; die in der 0,3 % starken Lösung gelegenen Kartoffeln waren so weich und bröckelig geworden, dass sie bei der geringsten Berührung auseinander fielen, aber auch die 0,05 %igen mussten wegen ihrer zu weichen Consistenz als für Culturen unbrauchbar verworfen werden. Ein befriedigendes Resultat bekam ich erst, als ich die rohen Kartoffelprismen nur 10 Minuten in den besagten Lösungen kochen liess. Dabei schien es mir zweckmässig, die betreffenden

Gefässe direct in den vorgeheizten Dampftopf zu stellen und nach dem Herausnehmen derselben, die heisse Sodalösung durch kalte von gleicher Concentration zu ersetzen. Nach dem Abkühlen wurden die Prismen sorgfältig in Reagensgläser übertragen und mit denselben auf discontinuirlichem Wege sterilisirt. So zubereitete Culturkartoffeln, namentlich die schwach alkalischen, unterscheiden sich im Aussehen kaum von nicht alkalisirten, währenddem die stark alkalischen einen mehr oder minder bläulich-grauen Farbenton angenommen hatten, jedoch nicht in einer Intensität, die für den Gebrauch störend sein konnte.

In weiterer Verfolgung der Kranhals'schen Versuche machte ich nun auf in angegebener Weise hergestellte Soda-Kartoffeln Cholera-Impfungen und zwar mit Material aus 40 Stunden alten Plattencolonien, die in Gegenwart von 0,3 % Soda gewachsen waren.

Verhalten der Cholerabacterien auf den schwach alkalischen Kartoffeln. 5 Culturen standen im Thermostaten von 20—21° C., 5 weitere im Brutschrank bei 36° C. Schon nach einem Tage war bei den letzteren an Stelle der Impfstriche feuchter Glanz zu bemerken; dieser wurde am 2. Tage stärker und am 3. Tage hatte sich ein zusammenhängender schleimig glänzender Rasen gebildet, der jedoch keine merkliche Erhebung über die Kartoffeloberfläche zeigte. Die letztere schien vielmehr an den betreffenden Stellen wie mit der Pilzmasse imprägnirt. Die Farbe der Cultur war nicht, wie von den Autoren angegeben wird, bräunlichroth, sondern ausgesprochen weiss. In den folgenden Tagen gewann nun der Pilzbelag auch eine gewisse Dicke, behielt aber im Durchschnitt bis zum 7. Tage seine helle Farbe. Zu dieser Zeit wurde sein Aussehen am besten charakterisirt durch die Bezeichnung: rahmartig von Consistenz und rahmartig von Farbe. Von genanntem Tage ab machte sich meist in den trockneren Partien gelblichbraune Verfärbung bemerkbar, die sich aber in keinem Falle auf die ganze Cultur erstreckte.

Die 5 im Thermostaten bei 20—21° C. aufbewahrten Culturen hatten die ganz gleichen Stadien durchlaufen, nur waren sie im

Anfang ca. 1—2 Tage in der Entwickelung zurück. Die Verfärbung war bei zweien schon vor dem 7. Tage eingetreten.

Verhalten der Cholerabacterien auf den stark alkalischen Kartoffeln. Bei Anwendung einer 0,05%igen Sodakartoffel konnte ich kaum ein üppiges, typisches Wachsthum erwarten und in der That machten die vorhin beschriebenen Culturen im Ganzen den Eindruck des Kümmerlichen, Gehemmten. Immerhin glaubte ich das stattgehabte Wachsthum als zu Gunsten meiner Methode sprechend betrachten zu dürfen, indem die Kartoffeln trotz der Behandlung mit ganz schwacher Sodalösung eine gewisse, wenn auch geringe Menge freies Alkali aufgenommen haben mussten. Für die stark alkalischen Kartoffeln hatte ich den Sodagehalt so gewählt, dass er ungefähr dem optimalen Alkalibedürfnis der Cholerabacterien entsprach. Ich impfte mit dem oben bezeichneten Materiale ebenfalls 10 Kartoffeln und stellte 5 derselben bei 20—21°, die anderen 5 bei 36° C. hin. Wie nach den vorigen Versuchen vorauszusehen war, fand nicht nur bei Brut-, sondern auch bei Zimmertemperatur Wachsthum statt und zwar diesmal in üppiger und nebenbei typischer Weise. Schon nach 24 Stunden zeigten sich an den Impfstellen bei den im Brutschrank gehaltenen Culturen röthlichbraune, schleimige Auflagerungen, die nun von Tag zu Tag an Masse zunahmen. Nach 5 Tagen war der Belag schon ganz zusammenhängend und schätzungsweise 1/2 mm dick. Die Farbe wurde jetzt immer lebhafter und war nach 14 Tagen leuchtend braunroth. Zu dieser Zeit nahmen die Culturen nicht nur so ziemlich die ganze Impffläche ein, sondern hatten sich auch um die Kanten herum auf die Seiten- und Rückflächen erstreckt. Später machte das lebhafte Rothbraun einem mehr missfarbigen Braun Platz, das mit zunehmender Austrocknung der Kartoffel immer dunkler wurde.

Aehnlich wie vorhin blieben auch in diesem Falle die bei 20° gestandenen Culturen in den ersten Tagen in der Entwickelung etwas zurück. Vom 7. bis 10. Tage an aber waren sie kaum mehr von den bei Bruttemperatur gezüchteten zu unterscheiden.

Diese Versuche schienen die Beobachtungen, welche Kranhals über das Wachsthum von Cholerabacterien auf seinen

alkalischen Kartoffeln mitgetheilt hatte, vollkommen zu bestätigen.

Während ich noch mit der Ausarbeitung dieser Abhandlung beschäftigt war, erschien ebenfalls über das Wachsthum von Cholerabacterien auf Kartoffeln eine Arbeit von O. Voges[1], welcher die Kartoffelstücke theils mit Soda, theils mit Aetznatron, theils mit Kochsalz imprägnirte und dann das Verhalten der Kommabacillen auf denselben studirte. Nachdem genannter Versuchsansteller aus gleichen Gründen wie ich von einem längern Kochen der Kartoffeln in der betreffenden Sodalösung absehen musste, schlug er folgendes Verfahren ein, welches tadellose Sodakartoffeln liefern soll. Die Kartoffeln sowohl wie die Lösung werden für sich sterilisirt, und nachdem beide vollständig erkaltet sind, wird die Flüssigkeit mit sterilisirter Pipette in das Kartoffelröhrchen gebracht und so lange in Contact gelassen, bis sie einen gelben Thon annimmt. Auf diese Weise sollen sich auch ganz brauchbare Natronkartoffeln herstellen lassen (3. Methode nach Voges).

Nach meinem Dafürhalten leidet dieses Verfahren ebenso wie dasjenige von Kranhals, welcher auf die Kartoffelstücke Sodalösung tröpfelt, bis sie sich damit gesättigt zeigen, an dem Uebelstande, dass die Sodazugabe nichts weniger als in quantitativer Weise erfolgt, was für Vergleichungszwecke doch äusserst wünschenswerth wäre. Durch das 10 Minuten dauernde Kochen der Kartoffelstücke in einem verhältnismässig grossen Volumen Sodalösung von bestimmter Concentration wird die Kartoffel durch und durch sehr weich, was zweifelsohne der Ausdruck für eine gleichmässig erfolgte Durchtränkung mit dieser Lösung ist. Die Frage der Herstellung eines Kartoffelnährbodens von beliebig bestimmtem Alkaligehalt scheint mir auf diesem Wege am ehesten gelöst zu sein.

Nach den Untersuchungen von Voges soll das günstigste Wachsthum der Cholerabacillen auf Kartoffeln mit Zusatz einer 2—3 %igen Kochsalzlösung stattfinden, ein annähernd so günstiges bei ¼—½ % Soda. Die so zu Gunsten von Kochsalz

1) C. f. Bact. u. P., Bd. XIII.

sprechenden Resultate überraschten mich nicht wenig, indem ich geglaubt hatte, nach den bisherigen Erfahrungen über die günstige Wirkung der alkalischen Reaction auf das Wachsthum der Cholerabacillen die mit Sodakartoffeln erzielten Erfolge einzig und allein auf den Einfluss des freien Alkali zurückzuführen zu müssen.

Was die Angaben von Voges über das Wachsthum auf Sodakartoffeln betrifft, so ist dabei nicht zu übersehen, dass das Optimum des Sodabedürfnisses nicht zwischen $^1/_4$ und $^1/_2$ % (Voges meint jedenfalls krystallisirte Soda) sondern wie schon erwähnt, bei ca. 1 % liegt und würde genannter Versuchsansteller bei Anwendung letzterer Concentration höchst wahrscheinlich für die Sodakartoffeln zu einem günstigeren Resultat gelangt sein. Das Ausbleiben der braunrothen, bezw. honigbraunen Farbe, worauf Voges besonders hinweist, konnte ich nur konstatiren, als ich die schwach alkalische, d. h. für Choleraculturen zu schwach alkalische Kartoffel verwendete.

Um die interessanten Versuche mit den Kochsalzkartoffeln zu wiederholen, hätte ich zur Herstellung der letzteren gerne möglichst genau das Verfahren von Voges eingeschlagen. Leider war aber aus der Abhandlung, auf die ich mir hier zu verweisen erlaube, nicht zu entnehmen, nach welchen der drei angeführten Methoden (a. a. O. 546) die Salzkartoffeln, auf denen das vorzügliche Wachsthum stattgefunden haben soll, präparirt worden sind. Als ich nach der ersten Methode schon nach einstündigem Kochen ein wegen seiner weichen Consistenz gänzlich unbrauchbares Product erhielt, versuchte ich es mit der dritten, auf welche auch von Voges das Hauptgewicht gelegt wird. Ich sterilisirte an und für sich sauer reagirende Kartoffelprismen einerseits und eine 3 $^0/_0$ ige Kochsalzlösung anderseits, liess erkalten und goss nachher mit sterilisirter Pipette die Lösung in die Kartoffelgläschen. Als nach einer halben Stunde bei Ersteren noch absolut keine Gelbfärbung zu bemerken war, goss ich dieselbe ab und sterilisirte von Neuem. Die so zubereiteten Kartoffeln waren sehr wenig verfärbt und impfte ich 10 Stück derselben mit Material aus drei Tage alten Plattenculturen. Fünf

der geimpften Röhrchen wurden in den Brutschrank gestellt, die andern fünf in den auf 20 ° C. eingestellten Thermostaten. Wider mein Erwarten stimmten die Ergebnisse gar nicht mit denjenigen von Voges überein, wie die folgenden Angaben zeigen

Die bei 20° C. gestandenen 3 % Kochsalzkartoffeln zeigten noch nach vier Tagen ein gänzlich unverändertes Aussehen, als ob sie nie geimpft worden wären. Erst am fünften Tag machte sich den Impfstellen entlang ein feuchter Schimmer bemerkbar, der sich in den folgenden Tagen deutlich als von Bacterienwachsthum herrührend kennzeichnete. Dasselbe entwickelte sich nach und nach als dünne, glänzende Auflagerung von braungelber Farbe und chagrinirter Oberfläche. 14 Tage nach der Impfung, während welcher Zeit die Kartoffel beträchtlich nachgedunkelt hatte, hatte die Colonie die Ränder der Impffläche noch nicht erreicht und hob sich in der Farbe wenig von derselben ab.

Auf den bei Bruttemperatur gestandenen Kartoffeln war allerdings schon zwei Tage nach der Impfung deutliches Wachsthum sichtbar als ein äusserst dünner, gelbbrauner, mattglänzender Belag, der am siebenten Tage immer noch hautartig dünn war und in Bezug auf Masse mit den auf meinen 0,3 % Sodakartoffeln nicht zu vergleichen war. Es stellte sich auch im weiteren Zeitverlaufe keine üppigere Entwickelung ein, sodass diese Culturen nach 14 Tagen den bei 20 ° C. gezüchteten wenig voraus waren. Immerhin zeigte die Bacterienmasse in den unteren, feuchteren Partien auf allen Exemplaren einen Anflug der charakteristischen rothbraunen Farbe.

Ich beschränke mich darauf, zu konstatiren, dass das bei meinen Versuchen über Wachsthum von Cholerabacillen auf Kochsalzkartoffeln gefundene Verhalten ein von demjenigen wie es Voges beschreibt, ganz abweichendes ist, ohne auf die weiteren Versuche und Schlussfolgerungen des Letzteren näher einzutreten.

Im Anschluss an die obigen Ausführungen über die Bedeutung der mehr oder minder hohen Alkalescenz der Nährböden,

möchte ich noch kurz darauf hinweisen, dass auch eine sauer Reaction der Nährsubstrate von einer ganzen Zahl von Bacterien ohne starke Beeinträchtigung des Wachsthums derselben ertragen wird und zwar ist das Vermögen derselben, in Gegenwart von freier Säure zu wachsen, wie aus einer auf Veranlassung von Prof. Uffelmann durch Schlüter[1]) ausgeführten Arbeit hervorgeht, im allgemeinen viel grösser, als man früher angenommen hatte. Für Typhus war dieses Verhalten schon längere Zeit bekannt und sind darauf mehrere Züchtungs- und Isolirungsmethoden gegründet, unter welchen wohl die Anwendung der sauren Phenol-Kartoffelgelatine nach Holtz[2]) am meisten verbreitet ist. Typhusbacillen haben übrigens in dieser Richtung ein sehr weitgehendes Anpassungsvermögen, während sie einerseits ziemliche Mengen von Säure ertragen, so scheint ihnen doch ein alkalischer Nährboden besser zuzusagen. Prof. Stutzer und ich erhielten von Typhus, den wir in Gegenwart von 0,5% Soda (entsprechend 1,35% krystallisirter Soda) wachsen liessen, noch grosse Colonien von typischem Aussehen.

Unter den Bacterien, welche gerade auf saure Nährböden ihre charakteristischen Eigenschaften entfalten, nennt Schlüter den Bacillus der blauen Milch, welcher auf einer Abkochung von Hausenblase, die mit 0,2% Milchsäure versetzt ist, mit deutlich schwachbläulicher Farbe gedeiht, welche auf alkalischen Nährböden nicht hervortritt.

Bacterien, welche bei Abwesenheit von freier Säure sich überhaupt nicht vermehren können, dürften schon seltener sein. Es gelang mir z. B. aus saurem, verdorbenen Traubenmost einen Streptococcus zu isoliren, der auf schwach alkalischer Traubenzucker-Gelatine nicht zur Entwickelung zu bringen war, der hingegen auf saurer Würze-Gelatine ansehnliche Colonien lieferte.

Eine eingehendere Berücksichtigung der chemischen Verhältnisse unserer künstlichen Nährböden wird ohne Zweifel noch eine ganze Reihe von interessanten Resultaten zur Folge haben;

---

1) C. f. Bact. u. P., Bd. XI, S. 589.

2) Z. f. Hyg., Bd. VIII, S. 143.

sie wird uns ein Hauptmittel an die Hand geben, gewisse Gruppen von Bacterien, die einen einheitlichen Typus repräsentiren, von einander zu trennen, resp. aus einem Gemenge von Bacterien verschiedenster Herkunft herauszuheben, sie wird aber auch für die Charakterisirung der einzelnen Art ein werthvolles Hilfsmittel bilden und sollte in Zukunft dementsprechende Würdigung finden. So scheint es z. B. im höchsten Grade wünschenswerth, wenn bei Untersuchung irgendwelcher Bacterien, namentlich auch von Wasserbacterien, das Optimum des Alkali- oder Säurebedürfnisses festgestellt würde und sich danach die Cultur auf den verschiedenen für die Erforschung der biologischen und morphologischen Verhältnisse erforderlichen Nährsubstraten richtete. Es möchte sich dabei empfehlen, dem Verhalten der Culturen auf Kartoffeln ganz besondere Aufmerksamkeit zu schenken und bei Bacterienbeschreibungen nur Wachsthumseigenthümlichkeiten von solchen Culturen als charakteristisch hinzustellen, die auf Kartoffeln von dem für die betreffende Art optimalen Alkali- bzw. Säuregehalt gezüchtet wurden.

Ich habe oben als sehr bezeichnendes Beispiel nur die Bacillen der asiatischen Cholera herangezogen. Höchstwahrscheinlich bedürfen noch manche diese oder jene Bacterienart betreffende Literaturangaben einer Richtigstellung in ähnlichem Sinne.

Ueber Bedeutung und Anlage von Oberflächenculturen.

Mit Recht gilt das Aussehen der Colonien auf der Fleischwasser-Pepton-Gelatineplatte als eines der hervorragendsten Kennzeichen einer Bacterienart und ist dasselbe in wenigen Fällen schon an und für sich genügend, um eine solche zu identificiren. Man findet deshalb auch in den mangelhaftesten Bacterienbeschreibungen immer Angaben über das Aussehen der Plattencolonien. Nun gehört aber gerade die richtige Beschreibung einer Plattencolonie in ihren verschiedenen Stadien nicht zu den leichteren Aufgaben, denn es tritt dem Beobachter eine solche

Menge von Erscheinungen verschiedenster Art entgegen, dass es manchmal schwer wird, das Wesentliche, Charakteristische vom Unwesentlichen zu trennen. Dazu kommt noch der Umstand, dass man es nicht mit einheitlichem Material zu thun hat, indem die Colonien einer nach dem Koch'schen Verfahren gegossenen Platte naturgemäss die verschiedensten Lagen in der festen Gelatine einnehmen. Die directe Folge davon ist, dass keiner Colonie der speciell für Wasserbacterien so wichtige O in dem gleichen Maasse zugeführt wird wie einer andern und daher uns dieselben als unter verschiedenartigen Existenzbedingungen entstandene Producte, als morphologisch verschiedene Dinge entgegentreten. Diese Eigenthümlichkeit gab den Autoren von jeher Veranlassung, die extremsten Formen besonders, nämlich als Tiefencolonien und Colonien der Oberfläche zu beschreiben, wobei man zu den Letztern diejenigen rechnete, welche zuerst auf der Oberfläche der Gelatine sich zeigten und sich deutlich von denen unterschieden, die mit blossem oder bewaffnetem Auge als wirklich in der Gelatine eingeschlossen erkennbar waren. Dabei wurden allerdings eine ganze Menge ursprünglich von der Gelatine vollständig umschlossener Colonien, die erst vermöge ihres nach allen Seiten sich ausdehnenden Wachsthums bis an die atmosphärische Luft vorgedrungen waren, als Oberflächencolonie behandelt. Streng genommen, befindet sich in einer frisch gegossenen Platte, die z. B. 1000 getrennte Keime enthielt, kaum ein einziger an der Oberfläche; aber eine ganze Anzahl derselben wird nur durch eine so dünne Schicht Gelatine von der dieselbe begrenzenden athmosphärischen Luft getrennt, dass diese Schicht in kürzester Zeit durchbrochen wird und sich nun die betreffenden Colonien fast genau so entwickeln, als ob der ursprüngliche Keim direct auf die Gelatinenflächen ausgesäet worden wäre. Tiefer liegende Keime erzeugen Colonien, die gar nicht oder erst später die Oberfläche erreichen und je nach der Lage werden dann die früher oder später erschienenen Colonien ein von einander abweichendes Aussehen haben. In dieser Eigenthümlichkeit der Plattenculturen ist ein Grund zu suchen, warum manchmal die aus irgend einer mit Colonien ver-

schiedener Art besetzten Originalplatte später angelegte Plattenreincultur Colonien liefert, die mit der Ausgangscolonie nicht vollständig übereinstimmen. Dass dabei noch andere Umstände von Einfluss sein können, wie z. B. die Stoffwechselproducte gewisser in der Nähe wachsender Colonien, will ich nur nebenbei erwähnen.

In seiner Arbeit über die Dorpater Wasserbacterien (a. a. O.) hat Tataroff auf die soeben besprochenen Verhältnisse eingehend Rücksicht genommen und unterscheidet in seinen recht guten Bacterienbeschreibungen das Bild der »Wasserplatte« von demjenigen, der »Plattenculturen«. Er geht dabei von der Ansicht aus, dass die uns auf den Wasserplatten (d. h. auf den mit einer gewissen Menge des zu untersuchenden Wassers geimpften Gelatineplatten) entgegentretenden Colonien immer Oberflächencolonien seien und sich deshalb im Stadium der besten Entwickelung darstellen. Diese Anschauung dürfte indess zum grösseren Theil auf Irrthum beruhen, denn jedenfalls verdanken die auf einer Wasserplatte frei an der Oberfläche sich befindlichen Colonien ihren Ursprung Keimen, die unmittelbar nach dem Giessen der Platte die verschiedensten Höhenanlagen in der Gelatine eingenommen haben. Eine Colonie in $^1/_2$ mm Entfernung von der Oberfläche, deren Individuen die Abwesenheit des O gut ertragen können, wird die Gelatineschicht schneller durchbrochen haben, als eine andere in $^1/_{10}$ mm Entfernung von der Oberfläche, deren Individuen ausgeprägtes Sauerstoffbedürfnis zeigen. Tataroff gibt ferner an, dass er dann die jeweilig gefundenen Wasserplattencolonien am besten nachahmen konnte, wenn er auf einer Nährgelatineschicht, die in Petri'schen Schälchen erstarrt war, mit einer feinen Platinnadelspitze, an der sich Spuren des zu verimpfenden Bacterienmaterials befanden, punktförmige Einstiche machte. Ich habe es unterlassen, auf diese Weise dem Ideal von wirklichen Oberflächencolonien näher zu kommen, weil ich, angeregt durch eine Publication von Drossbach[1]) mir auf eine höchst einfache Weise

---

1) C. f. Bact. u. P., Bd. XII, S. 653.

Platten mit streng oberflächlichen Colonien, die nichts zu wünschen übrig liessen, herstellen konnte.

Das Verfahren genannten Forschers beruht darauf, dass die zum Zwecke der Isolirung der Keime erforderliche Verdünnung schon vor der Impfung des Nährbodens mittelst sterilen Wassers vorgenommen wird. Eine geringe Quantität des Wassers mit den suspendirten Keimen wird nun auf den Nährboden, der sich in einem flachen Schälchen befindet, ausgegossen und durch leichtes Hin- und Herneigen desselben ordentlich vertheilt. Das Wasser soll nun entfernt werden, indem das Schälchen unter den Recipienten einer guten Luftpumpe gestellt wird, damit die dünne Flüssigkeitsschicht möglichst schnell verdampft. Der Hauptvortheil dieser Methode liegt darin, dass mit Hilfe derselben die Anwendung der festen Nährböden irgendwelcher Art eine unbeschränkte geworden ist und der Entdecker weist darauf hin, dass mit Hilfe seines Verfahrens vielleicht noch pathogene Organismen rein gezüchtet werden können, die sich bis jetzt der Beobachtung entzogen haben. Ein anderer Vortheil des Verfahrens ist der, dass es ausschliesslich wirkliche Oberflächencolonien liefert, wodurch auch das Abimpfen von solchen Culturen bedeutend erleichtert wird.

Da ich mich bei meinen differential-diagnostischen Arbeiten speciell für Oberflächencolonien interessirte, so kam mir die Veröffentlichung der erwähnten Methode sehr willkommen und ich versuchte nun mit Hilfe derselben von verschieden verflüssigenden und nicht verflüssigenden Bacterien Oberflächenculturen anzulegen. Ich beschickte zu diesem Zwecke eine Anzahl Petri'scher Schälchen mit geschmolzener, steriler Gelatine und liess dieselbe erstarren. Sodann stellte ich mir von den Culturen der zu untersuchenden Bacterien mit Hilfe von vorräthig gehaltenen Gläschen, die destillirtes sterilisirtes Wasser enthielten, verschiedene Verdünnungen her und goss von diesen so viel auf die erstarrten Nährböden, dass diese kaum eben von der Flüssigkeit bedeckt waren. Sofort nachher brachte ich zwei der Schälchen unter die Glocke einer guten Wasserstrahlluftpumpe, um das Wasser verdunsten zu lassen. Es dauerte eine geraume Zeit,

ca. 20 Minuten, bis das geschehen war, dabei hatte aber die Gelatineschicht bedeutend gelitten, indem eine Menge grösserer und kleinerer Blasen sich darin gebildet hatten, so dass die Platten als unverwendbar beseitigt werden mussten. Ein zweiter Versuch mit zwei andern Platten führte zu demselben Ergebnisse, so dass ich von dieser Art das flüssige Wasser zu entfernen Abstand nahm und meinen Zweck durch Anwendung stark wasserentziehender Mittel zu erreichen suchte. Diesbezügliche Versuche gaben wiederum ein negatives Resultat, indem die zur Absorption des Wassers erforderliche Zeit so lang ist, dass unterdessen in der Flüssigkeit leicht Bacterienvermehrung eintreten könnte. Die Schwierigkeit bestand also hauptsächlich darin, die relativ grosse Menge aufgegossenen Wassers möglichst rasch und ohne Beschädigung der Gelatineschicht zu entfernen, und konnte es sich vorläufig nur darum handeln, das Quantum der auf die Gelatineschicht aufzugiessenden Flüssigkeitsmenge thunlichst zu reduciren. In Verfolgung dieses Gedankens gedachte ich der zu verschiedenen Zwecken gebräuchlichen Flüssigkeits-Zerstäubungsapparate. Einige vorläufige Versuche belehrten mich, dass dieselben in der That vorzüglich geeignet sind, Keime von Mikroorganismen, speciell von Bacterien, in beliebig beschränkter Zahl auf irgend einem festen Nährsubstrat zu vertheilen. Es eignet sich zu diesem Zwecke am Besten diejenige Construction der genannten Apparate, bei welcher die Capillare, welche den Flüssigkeitsstrom liefert, in dem Luftrohr eingeschmolzen ist, so dass die Mündung der Ausströmungsöffnung für Luft diejenige der Ausströmungsöffnung für die Flüssigkeit centrisch umfasst. Die Zerstäubung sollte eine möglichst intensive sein; deshalb muss die Oeffnung der Capillare genügend eng gewählt werden (ca. 1/4 mm). Die Resultate, die ich mit dieser Abänderung des Drossbach'schen Verfahrens für Gelatine- und Agarplatten erzielte, waren äusserst zufriedenstellende und theile ich hier in Kürze mit, wie ich bei Herstellung meiner Oberflächen-Plattenculturen verfahre.

In ein 25 bis 28 mm weites Reagensglas, in dem sich 10 ccm destillirtes sterilisirtes Wasser befinden, wird eine nicht zu geringe

Menge der Bacteriencultur, von welcher man Oberflächencolonien zu haben wünscht, mittelst steriler Nadel oder Oese eingetragen und möglichst zertheilt, so dass die Flüssigkeit keine suspendirte Flocken oder Fetzen enthält. Die Menge der eingebrachten Bacterien darf so gross sein, dass das Wasser durch dieselben eben schwach getrübt erscheint. Sodann wird anstatt des Wattestopfens ein gut schliessender Gummistopfen aufgesetzt, in dessen einziger Durchbohrung sich der Zerstäuber in Verbindung mit dem Gummiballgebläse befindet. Zerstäuber und Gummistopfen waren vorher sterilisirt. Das Gebläse trägt an der für den Eintritt der Luft bestimmten Oeffnung einen Ansatz von Glas, in welchen ein Wattestopfen geschoben wird, der die in der einzusaugenden Luft enthaltenen Keime zurückhalten soll. Auf diese Weise montirt kann der einfache Apparat in Function gesetzt werden. Die nöthigen Petri'schen Schälchen beschickt man unmittelbar vorher mit den betreffenden geschmolzenen Nährmedien und lässt dieselben erstarren. Ein kräftiger Druck auf den Gummiball des Gebläses erzeugt vor der Mündung des capillaren Ausflussrohres einen feinsten Sprühregen, welchem nun die unbedeckte Gelatine- oder Agarfläche für Momente ausgesetzt wird, um mit den verschwindend kleinen Flüssigkeitströpfchen zugleich eine Anzahl der in denselben vertheilten Bacterien aufzufangen.

Ueber die Einzelheiten der Handhabung, sowie der Sterilisation des Apparates glaube ich in Anbetracht der Einfachheit desselben hinweggehen zu können. Ich möchte nur noch bemerken, dass, wenn man in das Reagensglas mit sterilisirtem Wasser eine nicht zu geringe Anzahl von Keimen eingebracht hat, es genügt, die Platte 1 bis 3 Sekunden dem feinsten Flüssigkeitsstaub auszusetzen, der erst im reflectirten Lichte sichtbar wird und langsam zu Boden fällt als die auch im durchfallenden Lichte sichtbaren Wassertröpfchen. Eine auf diese Weise angelegte Platte unterscheidet sich unmittelbar nach der Impfung in nichts von einer ungeimpften, indem die feinsten Wassertheilchen einerseits ihrer Kleinheit wegen nicht sichtbar sein würden, anderseits sofort verdunsten. Die bei dem Drossbach'schen Verfahren

nothwendigen verschiedenen Verdünnungen fallen bei der beschriebenen Modification desselben weg, weil man es durch kürzer oder länger andauerndes Besprühen der Platten in der Hand hat, dieselben mehr oder weniger dicht mit Keimen zu besäen. Da ferner die Platten höchstens 3 Sekunden der Luft exponirt zu werden brauchen, so ist die Gefahr einer Infection von Aussen sehr gering und gelingt es bei sorgfältiger Arbeit, den grössten Theil der Platten frei von jeder Verunreinigung zu bewahren.

Wegen der Leichtigkeit, mit der wir nach vorstehend beschriebenen Verfahren im Stande sind, Oberflächen-Plattenculturen herzustellen, wird es sich empfehlen, dieselben in Zukunft immer da anzuwenden, wo es sich darum handelt, die charakteristischen Wachsthumserscheinungen eines Bacteriums in Plattenculturen festzustellen.

(So, wie die Methode oben beschrieben wurde, wird sie nur für nicht pathogene Bacterien verwendbar sein, und diese hatte ich in erster Linie im Auge. Unter geeigneter Schutzvorrichtung würde sich aber das Verfahren auch mit Vortheil im Dienste der Erforschung pathogener Mikroorganismen verwenden lassen.)

Eine möglichst genaue Wiedergabe des Bildes der Plattencolonie ist, wie ich schon früher hervorzuheben Gelegenheit hatte, für die Characterisirung irgend einer Art von höchster Bedeutung und kann oft für die Wiedererkennung derselben eine solche Menge von Anhaltspunkten liefern, dass sie schon unter alleiniger Zuziehung der morphologischen Merkmale des Individuums die Diagnose sichert; anderseits kann eine mangelhafte Beschreibung der Plattencolonie mehr verwirren als die ungenaue Wiedergabe eines der andern üblichen Culturmerkmale. Schon aus diesem Grunde sollte jedes Mittel berücksichtigt werden, das geeignet ist, eine präcisere Aufnahme der Plattenculturmerkmale zu ermöglichen, und ein solches Mittel besitzen wir in der Oberflächen-Plattencultur. Die Oberflächencolonie tritt nicht nur dem unbewaffneten Auge als einheitliches, unter ganz bestimmten physikalischen und chemischen Bedingungen entstandenes Product

der Lebensthätigkeit der betreffenden Bacterienart entgegen, sondern sie bildet auch für die mikroskopische Untersuchung, namentlich in den jüngsten Wachsthumsstadien, aus naheliegenden Gründen ein geeigneteres Untersuchungsobject, als die bisher mit diesem Namen bezeichneten Colonien.[1])

Untersuchung auf Alkali- oder Säurebildung.

Zu den auf das chemische Verhalten der Bacterien bezüglichen Untersuchungsmethoden, die ich zum Zwecke der folgenden zwei Bacterienbeschreibungen mitbenutzt habe, ohne gerade specielle Versuche über deren diagnostischen Werth anzustellen, gehört u. a. die Cultivirung in der Lakmusmolke nach Petruschky. Um auf Grund des chemischen Verhaltens der Bacterien eine bessere und vollkommenere Differenzirung derselben zu ermöglichen, hat bekanntlich Petruschky[2]) eine Methode ausgearbeitet, nach welcher es möglich sein soll, den relativen Grad der Säure- oder Alkaliproduction irgend einer Bacterienart auf titrimetrischem Wege zu bestimmen um so für die Diagnose verwendbare Zahlenwerthe zu bekommen. Nach den Angaben in der Literatur zu schliessen, scheint die Methode in der Praxis kaum festen Fuss gefasst zu haben. Tataroff (a. a. O.) hat bei sämmtlichen seiner 40 beschriebenen Bacterienarten das Verhalten in der Lakmusmolke, die genau nach Petruschky's Vorschrift bereitet war, studirt und dabei gefunden, dass Wärme, Licht und geringfügige Schwankungen in der Zusammensetzung des Nährsubstrates einen ausserordentlich grossen Einfluss auf die Tendenz einer Art, Alkali oder Säure zu bilden, ausüben. Am Schlusse seiner diesbezüglichen Darlegungen spricht sich dieser Forscher folgendermaassen aus: »Soll ich kurz alles zusammenfassen, so muss ich wiederholen, dass ich einen Nutzen von dem Verfahren nur dort erwarte, wo es sich um die Differenzirung von nur wenigen Arten und nur im gröberen

1) Die oben erwähnten von mir verwendeten Zerstäubungsapparate sind bezogen von der Firma Franz Müller, Dr. H. Geissler's Nachf., Bonn.

2) C. f. Bact. u. P., Bd. VI. u. VII.

Sinne, d. h. ob Alkali oder Säurebildner, handelt. Und auch dann spricht der Befund, wie es mir scheint, noch nicht für die beständige Tendenz Säure resp. Alkali zu bilden.«

In einer von mir genau nach Vorschrift hergestellten sehr empfindlichen Lakmusmolke brachte der unten beschriebene Coccus bei 20 wie auch bei 30° C. während 43 Tagen absolut keine Reactionsänderung hervor, währenddem er auf Glycerin-Agarplatten schon nach kurzer Zeit eine bedeutende Säuremenge entwickelt, die sich sowohl durch Lakmuspapier als auch durch den Geruch deutlich erkennen lässt.

Ebenfalls saure Reaction zeigt die verflüssigte Partie alter Gelatine-Stichculturen, selbst wenn für die letzteren eine schwach alkalische (0,02% Soda) Gelatine verwendet worden war. Dieser Coccus muss demnach als entschiedener Säurebildner bezeichnet werden.

Wenn sonach die nach der Methode von Petruschky gewonnenen Resultate nur in beschränktem Sinne verwerthbar sind, und man daher wohl meist auf die etwas umständliche Herstellung der Lakmusmolke verzichten wird, so ist es doch angezeigt, allfällige constant auftretende spontane Reactionsänderungen in Bacterienculturen auf irgend einem Substrat beim Studium derselben nicht ausser Acht zu lassen, und bei Beschreibungen unter Angabe der hiezu nöthigen Bedingungen zu erwähnen.

Es liegt im Interesse der Vergleichbarkeit meiner Resultate, wenn ich die Arbeitsweise, die ich bei Aufstellung der beiden folgenden Beschreibungen innehielt, in einigen Punkten noch besonders präcisire:

Die Messungen der Individuen und deren Verbände wurden nicht am gefärbten, sondern am lebenden Präparat vorgenommen.

Was die Zusammensetzung der Nährböden betrifft, so verwendete ich die allgemein übliche 10% Fleischwasserpepton-Gelatine, sowie die gewöhnliche Nährbouillon. Als für den Brutschrank bestimmten festen und durchsichtigen Nährboden benützte ich das 1% Fleischwasserpepton-Agar unter Zusatz von

6 % Glycerin. Diese sämmtlichen Nährböden waren nach der Herstellung sehr schwach alkalisch, d. h. sie enthielten höchstens 0,01 % freie Soda.

Um das Alkalibedürfnis für die untersuchten Arten festzustellen, verfuhr ich in folgender Weise: Ich stellte mir aus einer jungen Reinkultur des betreffenden Organismus eine genügend verdünnte Aufschwemmung dar und impfte mit je 1/10 ccm derselben die erwärmten Agar- und Gelatinegläschen, welchen schon vorher wechselnde Mengen von Alkali, bzw. Säure zugesetzt worden waren. Indem ich dann die entwickelten Plattenculturen sowohl in Bezug auf Zahl als auch auf Grösse bzw. Ueppigkeit der Colonien verglich, konnte ich mir ein Bild von dem optimalen Alkali bzw. Säurebedürfnis der betreffenden Art machen.

Das Reductionsvermögen ebenso wie das Gährungsvermögen studirte ich unter Anwendung der von Theobald Smith[1]) empfohlenen Gährungskölbchen.

Neuer Bacillus aus Rheinwasser.

Fundort: Aus Rheinwasser mittelst des Plattenverfahrens (Fl. W. P. Gelatine) isolirt.

Morphologische Verhältnisse: Bacillen, im Mittel 2½ bis 3½ μ lang und ca. ¾ μ dick, an den Enden abgerundet und dabei meist etwas verjüngt, sich also der Spindelform nähernd. Einzelne Individuen schwach bogig gekrümmt. Bei gehemmtem Wachsthum, so namentlich in 1 bis 2 Tage alten Bouillonculturen, so lang sich auf denselben noch keine Decke gebildet hat, auch fadenförmige Individuen von verschiedener Länge, meist 5 bis 10 μ, aber auch in einzelnen Fällen bis 90 μ. Solche Fäden sind nur ½ bis ¾ μ dick und bilden nicht regelmässige Curven, oder gerade Linien, sondern sind unregelmässig hin und hergebogen und geknickt. Bei starker Vergrösserung (Zeiss $\frac{2,0}{1,30}$) zeigen sie sich meist aus kurzen oder längeren elliptischen Gliedern zusammengesetzt. Sporenbildung konnte nicht

1) C. f. Bact. u. P., Bd. VII, S. 506.

nachgewiesen werden; die kaum oder schwach gefärbten Stellen in Präparaten aus alten Kartoffelculturen können nicht mit Sporen verwechselt werden.

Beweglichkeit: In Culturen mit genügendem Sauerstoffzutritt, bewegen sich die Stäbchen und Doppelstäbchen, geradlinig vorwärts, schlängelnd, aber auch an Ort und Stelle um die Quer- oder Längsaxe sich drehend. Die oben erwähnten Fäden sind vollkommen unbeweglich, ebenso auch die kurzen Glieder in Culturen mit mangelndem Luftzutritt.

Gelatineplatten: a) Colonien der Oberfläche: Bei 20° C. nach 2 bis 3 $\times$ 24 Stunden: Colonien mit $^1/_2$ bis 1 mm Durchmesser, glasartig durchscheinend, noch keine gelbe Farbe zeigend. Bei schwacher Vergrösserung ist der Rand wellig oder wellig-kerbig. Die Colonie zeigt sich als mässig gewölbte Kuppe, deren Oberfläche hügelig rauh ist. Bei Anwendung möglichst enger Blendung ist ein radial angelegtes, nicht dichtes Adersystem zu sehen, dessen einzelne Adern sich in unregelmässiger Weise gegen die Peripherie hin verzweigen. Vom 3. Tage an wird dieses Adersystem undeutlicher und die Colonien zeigen im Centrum einen Anflug von gelber Färbung, während der peripherische Theil noch durchscheinend grau ist. In den folgenden Tagen jedoch verbreitet sich der gelbe Farbstoff über die ganzen Colonien und scheint sogar ein wenig in die umgebende Gelatine zu diffundiren. Ungefähr vom 5. Tage an macht sich eine Erweichung der letzteren bemerkbar, indem die früheren convexen Colonien sich verflachen und zum Theil concav werden. Nach einer Woche fliessen sehr dicht besetzte Platten beim Neigen, während bei solchen die nur 50 bis 100 Colonien enthalten, auf den ersten Blick noch keine Verflüssigung wahrzunehmen ist. Bei Betrachtung unter schiefem Winkel, zeigt sich aber jede Colonie in einer flachen Mulde zähflüssiger, vollkommen klarer Gelatine liegend und nach weiteren 5 Tagen sind auch solche Platten vollkommen zerflossen. Kurz vor diesem Stadium zeigen die Platten ein höchst charakteristisches Aussehen. Die lebhaft dottergelben Colonien liegen an den Punkten ihrer Entstehung in der zähflüssigen klaren Gelatine als 3 bis 6 mm Durchmesser

haltende Scheiben, die so cohärent sind, dass sie sich mit der Platinnadel mit Leichtigkeit aufspiessen und ohne ihren Zusammenhang zu verlieren herausheben lassen. In's Wasser gebracht, verblassen diese Scheiben sehr schnell. b) Colonien der Tiefe: Dieselben stellen sich dem Auge als schmutzig gelbe Punkte dar, sind bei schwacher Vergrösserung kreisrund und glattrandig, zeigen immer deutlich körnige Struktur und an der Peripherie eine concentrisch abgegrenzte Zone. Sie erscheinen im durchfallenden Lichte bei schwacher Vergrösserung schwach gelb gefärbt; im auffallenden Lichte besitzt die ringförmige Randzone weisslichen Schimmer.

Gelatine-Stich: Das Wachsthum macht sich im Anfang oberflächlich durch die Bildung einer ganz kleinen Mulde bemerkbar, die sich nur langsam vergrössert. Nach 7 Tagen ungefähr hat der Durchmesser derselben die Weite (15 mm) des Reagensglases erreicht, während die Tiefe kaum die Hälfte dieser Dimension beträgt. Die nicht verflüssigte Gelatine, welche an die Mulde angrenzt, zeigt bläulichgraue Opalescenz. Auf dem Grunde der Mulde liegt gelbe Bacterienmasse, auf der Oberfläche schwimmen einige gelbe Fetzen, keine zusammenhängende Decke. Das Wachsthum im Stichkanal bleibt entsprechend dem starken Sauerstoffbedürfnis des Bacillus schwach und nimmt von oben nach unten deutlich ab, um im untersten Theil fast ganz zu verschwinden. Nach 10 bis 14 Tagen zeigt die Cultur oben einen kleineren verflüssigten cylinderförmigen Theil und am Grunde desselben die lebhaft gelbe Colonie; unten einen grösseren nichtverflüssigten, der im weiteren Zeitverlauf kaum merklich verändert wird.

Glycerinagar-Strich: Die Colonie wächst bei 20° C. als dünner, honiggelber glänzender Belag, der nicht von schmieriger Consistenz ist, sondern beim Berühren mit der Nadel sich trocken und zähe anfühlt.

Kartoffeln: Mit Material aus Plattenculturen erhält man schon nach 24 Stunden einen dünnen, kaum über die Kartoffelfläche erhabenen Belag, der in den folgenden Tagen rost- bis oranggelbe Farbe annimmt. Nach 10 Tagen ist die Auflagerung

$^1/_2$ bis 2 cm breit, feucht glänzend und $^1/_4$ bis $^1/_2$ mm mächtig. Kartoffeln, die mit Material aus ganz jungen Bouillonculturen geimpft wurden, liefern Culturen mit blassgelber Farbe, welche erst nach etwa 6 Tagen in den lebhaften Ton übergeht.

Bouillon: Dieselbe ist schon nach 24 Stunden mässig stark getrübt. Später, bei günstigsten Wachsthumsbedingungen schon nach 2 bis 3 Tagen, entsteht auf der Oberfläche ein Häutchen, welches sich nach und nach zu einer dicken, lebhaft gelb gefärbten Decke ausbildet. Diese Decke besteht aus normalen Bacillen, wie sie sich in Plattenculturen finden, währenddem vor der Deckenbildung aus der trüben Flüssigkeit angefertigte Präparate nur die erwähnten faden- oder wurmartigen Gebilde zeigen. Hand in Hand mit der Deckenbildung geht die Ansammlung eines nicht sehr voluminösen gelben Bodensatzes. Nach 14 Tagen hat sich die Flüssigkeit fast wieder vollständig geklärt und die Decke hat zu dieser Zeit ihre schönste Ausbildung erreicht. Beim Schütteln zerreisst dieselbe in einzelne Stücke, die durch eine farblose schleimige Substanz untereinander verbunden bleiben und zum Theil zu Boden sinken.

Milch: Es findet theilweise Gerinnung statt, aber nur im oberen Theil des Gläschens. Die oben schwimmende Rahmschicht nimmt einige Tage nach der Impfung schwach gelbe Farbe an, deren Intensität im Laufe der Zeit zunimmt. Diese Farbe rührt von einer oberflächlichen, von Bacterien gebildeten Decke her, die einen matten Glanz besitzt und ähnlich zähe ist, wie die Culturen auf der Gelatineplatte oder auf Kartoffeln. Die Reaction des unter der Decke befindlichen Milchserums ist schwach alkalisch und ist daher die theilweise Kaseïnabscheidung auf Fermentwirkung zurückzuführen.

Temperatur-Verhältnisse: Der Bacillus gedeiht vorzüglich bei 20° C. und auch bei niederer Zimmertemperatur, nicht aber bei Bluttemperatur. Bei letzterer ist keine Spur von Wachsthum zu erkennen. In 7 Tage alte Bouillonculturen, die 5 Minuten der Siedehitze ausgesetzt wurden, waren keine lebenden Bacterien mehr aufzuweisen, ebenso fand Abtödtung statt durch $^1/_2$ stündiges Erhitzen der Culturen auf 60° C.

Sauerstoffbedürfnis: Dasselbe ist sehr ausgeprägt. Verschliesst man die Culturgläschen mit Gummikappe, so wird das Wachsthum stark gehemmt und hört bald ganz auf. Infolge der Sauerstoff-Absorption wird die Gummikappe durch den atmosphärischen Druck stark nach Innen gewölbt.

Optimale Reaction (Sodabedürfnis): Das beste Wachsthum findet bei einem Gehalt der Nährböden von ca. 0,05 % freier Soda statt.

Gasproduction: Nicht vorhanden, auch in mit Dextrin versetzten Nährsubstraten nicht. Dicht mit Colonien besetzte Gelatineplatten geben im Stadium der Verflüssigung einen angenehmen, ziemlich intensiven Geruch von sich, der an denjenigen der Traubenhyacinthen (Muscari-Arten) erinnert.

Reductionsvermögen: Der Bacillus übt auf Lakmusfarbstoff stark reducirende Wirkung aus.

Färbung: Färbt sich im allgemeinen sehr leicht und gleichmässig mit den wässerigen Lösungen der gebräuchlichen Anilinfarben. Alte Kartoffelculturen hingegen zeigen die meisten Stäbchen ungleichmässig gefärbt, gewöhnlich die Pole intensiv und die dazwischen liegende Partie sehr blass. Geisselfärbung gelang nicht nach dem Löffler'schen Verfahren.

Neuer Mikrococcus aus Rheinwasser.

Fundort: Stammt aus einer Glycerin-Agarplatte, die mit Rheinwasser geimpft war und im Brutofen gestanden hatte.

Morphologisches Verhalten: Coccen, deren Durchmesser ziemlich variirt, nämlich von 1/2 bis 5/4 μ; die Meisten messen 3/4 bis 1 μ. Dieselben sind, namentlich diejenigen aus Plattencolonien, fast nie kreisrund, sondern unregelmässig abgeplattet. Tetraden sind nicht häufig, aber immer aufzufinden. Eigentliche Ketten werden nicht gebildet, mitunter trifft man auf Verbände von drei hintereinander liegenden Individuen, von welchen das Mittlere wie von den Aeusseren zusammengepresst, erscheint. Waarenballenförmige Verbände, wie sie für Sarcinen charakteristisch sind, fehlen ganz.

Beweglichkeit: Nicht vorhanden.

Gelatine Platten: a) Colonien der Oberfläche: Bei 20° C. nach 2 bis 3 Tagen erscheinen dieselben als für das Auge eben sichtbare weisse Punkte. Bei schwacher Vergrösserung sind es kreisrunde Scheiben, mit schwach und unregelmässig gekerbtem Rand, der deutlich körnige Structur zeigt. Die Colonien sind am siebenten Tage immer noch sehr klein (1/4 bis 1/3 mm) und beginnen um diese Zeit in der erweichten Gelatine etwas einzusinken. Die Erweichung schreitet sehr langsam vorwärts und erst nach Wochen liegt jede Colonie in einer Mulde zähflüssiger Gelatine. b) Colonien der Tiefe: Bieten wenig Charakteristisches, sie erscheinen bei schwacher Vergrösserung meist linsenförmig oder stumpf-spindelförmig und lassen in den Randpartien körnige Structur erkennen.

Gelatine Stich: Nach zwei Tagen ist an der Einstichöffnung eine kleine Mulde zu sehen, die sich in den folgenden Tagen immer mehr vertieft, um mit der Zeit die sogenannte luftblasenartige Gestaltung anzunehmen. Die Verflüssigungszone bildet nach acht Tagen einen sehr engen aber langen Trichter, der im mittleren Theile von so klarer verflüssigter Gelatine erfüllt ist, dass man die Grenze zwischen fester und flüssiger Gelatine kaum wahrnimmt. Im untersten Theile hat sich nach dieser Zeit schon weisse, körnige Bacterienmasse angesammelt, die nach und nach von der Oberfläche der Flüssigkeit, wo sich eine Decke gebildet hat, in die Tiefe gesunken ist. Das Wachsthum schreitet sehr langsam vorwärts. Nach etwa sieben Wochen scheint an der Oberfläche keine Vermehrung mehr stattzufinden. Der nun bedeutend erweiterte Trichter hat immerhin die Wand des 15 mm weiten Reagensglases noch nicht erreicht. Er trägt jetzt in seiner Spitze starke, weisse Ansammlung. Zudem ist die sonst klare verflüssigte Gelatine mit zahlreichen feinen, suspendirten Flöckchen erfüllt.

Glycerin-Agarplatten: a) Colonien der Oberfläche: Bei 30° C. nach 2 $\times$ 24 Stunden 2 bis 3 mm im Durchmesser haltende, reinweisse. stark glänzende, sehr schwach gewölbte Scheiben. Bei schwacher Vergrösserung erscheint die Randpartie deutlich körnig und bei stärkerer Vergrösserung zeigt sich,

dass die ganze Colonie ein körniges Gefüge hat, welches gegen die Peripherie hin immer lockerer wird und sich zuletzt in zusammenhanglose, zerstreute Granula auflöst. In den folgenden Tagen nimmt die Colonie noch um ein Geringes an Umfang zu, erreicht jedoch höchstens 4 bis 5 mm Durchmesser. Die weisse Bacterienmasse ist von sehr weicher Consistenz. Beim Abimpfen macht sich das Vorhandensein einer visciden Substanz bemerkbar, indem die weisse Masse sich schwach aber deutlich fadenziehend erweist. b) Colonien der Tiefe: Ebenso wie in den Gelatineplatten.

Glycerinagar-Strich: Nach 24 Stunden bei 30° C. oder bei Bluttemperatur den Strich entlang weisse, glänzende. schmierige Auflagerung mit fadenziehenden Eigenschaften. Nach weitern 24 Stunden hat die Colonie an Breite zugenommen um sich von dieser Zeit an wenig mehr zu vergrössern. In keinem Falle wird die ganze Impffläche gleichmässig von der Colonie überzogen, sondern die letztere bildet immer längs des Impfstrichs einen mehr oder weniger breiten Streifen.

Kartoffeln: Innerhalb 24 Stunden kommt es auf schwach sauren Kartoffeln zu einer weissen, ganz flachen sich nicht weit von der Impfstelle entfernenden Auflagerung, die in den folgenden Tagen etwas dicker wird, ohne je eigentliche Wölbung zu zeigen. Die weisse Masse ist von ausserordentlich weicher Consistenz und zeigt hier die fadenziehende Eigenschaft besonders deutlich. Bei Verwendung von 0,05% Sodakartoffeln werden nur sehr kümmerlich aussehende Colonien erhalten.

Bouillon: Bei 30° C. oder Bluttemperatur ist schon nach 24 Stunden sehr starke gleichmässige Trübung eingetreten, die nicht wieder verschwindet. Im Laufe der Zeit sammelt sich eine weisse, nicht flockige, sondern feinkörnige Masse.

Sterilisirte Milch: Sterilisirte Milch erleidet scheinbar keine Veränderung. Gerinnung findet nicht statt. Die Reaction ist nach 14 Tagen eine Spur sauer.

Temperatur-Verhältnisse: Bei 20—22° C. und noch mehr bei mittlerer Zimmertemperatur findet nur äusserst langsames Wachsthum statt. Bei Bluttemperatur sowie auch schon

bei 30° C. tritt schnelle Vermehrung und dementsprechendes Wachsthum der Colonien ein. Halbstündiges Erhitzen auf 60° C. tödtet gut entwickelte Bouillenculturen nicht, wohl aber ein gleich lang dauerndes Erhitzen auf 80° C. ebenso kurzes, einmaliges Aufkochen.

Luftbedürfnis: Unter der Glimmerplatte entwickeln sich keine Colonien.

Sodabedürfnis: Gedeiht am Besten bei neutraler oder schwach saurer Reaction. Zusatz von 0,3% Soda hebt das Wachsthum auf Platten fast vollständig auf, ebenso Zusatz von 0,03% SO_3. Nicht alkalisirte, sauer reagirende Kartoffeln liefern bessere Culturen als mit 0,05 % Soda behandelte.

Gasproduction: Nicht vorhanden, auch in mit Dextrin versetzten Nährsubstraten nicht. Bei 30° C. oder Bluttemperatur gehaltene Agarplattenculturen geben, besonders wenn sie einige Tage alt und, einen intensiv säuerlichen Geruch von sich, der in erster Linie von Milchsäure herzurühren scheint.

Reductionsvermögen: Der Coccus übt auf Lakmusfarbstoff stark reducirende Wirkung aus.

Färbungsvermögen: Färbt sich leicht mit den wässerigen Lösungen der gebräuchlichen Anilinfarben.

Pathogenität: Der Umstand, dass der Coccus sehr gut bei Bluttemperatur aber nur kümmerlich bei Zimmertemperatur gedeiht, berechtigte zu der Vermuthung, dass derselbe auf den thierischen Organismus pathogene Wirkung haben könnte. Mit Meerschweinchen vorgenommene Fütterungsversuche führten indess ebensowenig wie subcutane Injectionen zu positiven Resultaten.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem hochverehrten Chef Herrn Prof. Dr. A. Stutzer für das mir jederzeit bewiesene Wohlwollen sowie für die gütige Unterstützung, die derselbe mir bei der Ausführung dieser Arbeit zu Theil werden liess, meinen innigsten Dank auszusprechen.

Die Methode von Pettersson und Palmquist zur Bestimmung der Kohlensäure in der Luft.

Von

mag. pharm. **Max Teich,**

Demonstrator am hygienischen Universitätsinstitute in Wien.

Vor einigen Jahren hat der ausgezeichnete schwedische Chemiker O. Pettersson [1]) eine gasanalytische Methode angegeben, welche wegen ihres neuen, geistreich ersonnenen und durchgeführten Principes, sich von den Schwankungen des Luftdruckes und der Temperatur unabhängig zu machen, die Aufmerksamkeit der Sachverständigen erregte. Das neue Princip war zuerst zur Bestimmung der Kohlensäure und des Wasserdampfes in der Luft verwerthet worden. [2]) Später haben dann O. Pettersson und A. Palmquist [3]) einen einfacheren und handlicheren Apparat zur alleinigen Kohlensäurebestimmung in der Luft für den Hygieniker gebaut. Wenn dieser von Franz Müller in Bonn mit bekannter Sorgfalt hergestellte Apparat bisher von Denen, für die er bestimmt ist, noch so wenig gebraucht worden ist, so liegt dies, abgesehen von den nicht unbedeutenden Anschaffungskosten, wohl hauptsächlich daran, dass der Apparat auf den ersten Blick verwickelt erscheint, und dass seine Handhabung wirklich erst gelernt werden muss, was durch die allzu kurz gehaltene Beschreibung des Verfahrens durch seine Erfinder wesentlich erschwert wird. Da ich mich bei Versuchen, die ich über Auftrag und unter Leitung des Herrn Prof. Max Gruber ausgeführt habe, von der Bequemlichkeit und Raschheit der Methode, sowie

1) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. XXV, S. 479.

2) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. XXV, S. 467.

3) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XX, S. 2129.

von ihrer Exactheit überzeugt habe, erlaube ich mir, meine Erfahrungen hier mitzutheilen, die vielleicht Manchem, der viel mit Luftuntersuchungen zu thun hat, erwünscht sein werden.

Zunächst dürfte es nützlich sein, Einrichtung und Handhabung des Apparates zu beschreiben. Im Verlaufe der Versuche haben wir manche Handgriffe erlernt und manche Fehlerquellen wahrgenommen. Ihre Mittheilung wird Anderen über die ersten Schwierigkeiten hinweghelfen.

Der Apparat (siehe die Original-Figur Nr. 1 auf S. 40) besteht aus 3 Haupttheilen: aus der Messpipette *A* mit dem Scalenrohre, welches durch einen Kautschukschlauch mit dem beweglichen Quecksilbergefässe *E* verbunden ist; aus dem Orsat'schen Kalirohre *B* zur Absorption der Kohlensäure und aus dem Compensationsgefässe *C* mit dem Manometer, welches zur Beseitigung des Einflusses der Temperatur und der Druckunterschiede überhaupt bestimmt ist.

Schliesst man die Hähne *a* und *b* und öffnet man *c* und *d*, so kann man durch Heben oder Senken des Quecksilbergefässes *E* nach Belieben die ca. 25 ccm fassende Messpipette *A* mit Quecksilber oder mit Luft, welche durch *c* eintritt, füllen. Prof Gruber hat das freie Rohrende bei *c* verlängern und rechtwinkelig herausbiegen lassen. Man kann dann einen Schlauch darüber schieben und damit ein Rohr verbinden, so dass man von beliebigen Orten her Luft ansaugen kann. Benützt man ein solches Ansatzrohr, dann muss man erst die darin enthaltene Luft durch die zu untersuchende Luft verdrängen, indem man mehrmals nacheinander abwechselnd die Pipette durch das Rohr und *c* mit Luft füllt und, nach Schluss des Hahnes *c*, durch die Hähne *a* und *g* entleert.

Das Skalenrohr der Pipette besteht aus einem oberen engeren und einem unteren weiteren Theile. Jeder Theil hat seinen eigenen Nullpunkt und seine eigene Skale. Jeder Theilstrich der oberen Skale bedeutet $^1/_{10000}$ des Gesammtvolumens der Pipette vom oberen Nullpunkte; jeder Theilstrich der unteren Skale ein $^1/_{1000}$ des Gesammtvolumens vom unteren Nullpunkte an gerechnet. Die untere Skale soll bei Kohlensäuregehalten von mehr als 8°/₀₀ gebraucht werden. Wir haben sie nie benützt. Sollen

auch solche hohe Kohlensäuregehalte mit dem Apparate exact bestimmt werden, dann muss der Apparat abgeändert und auch

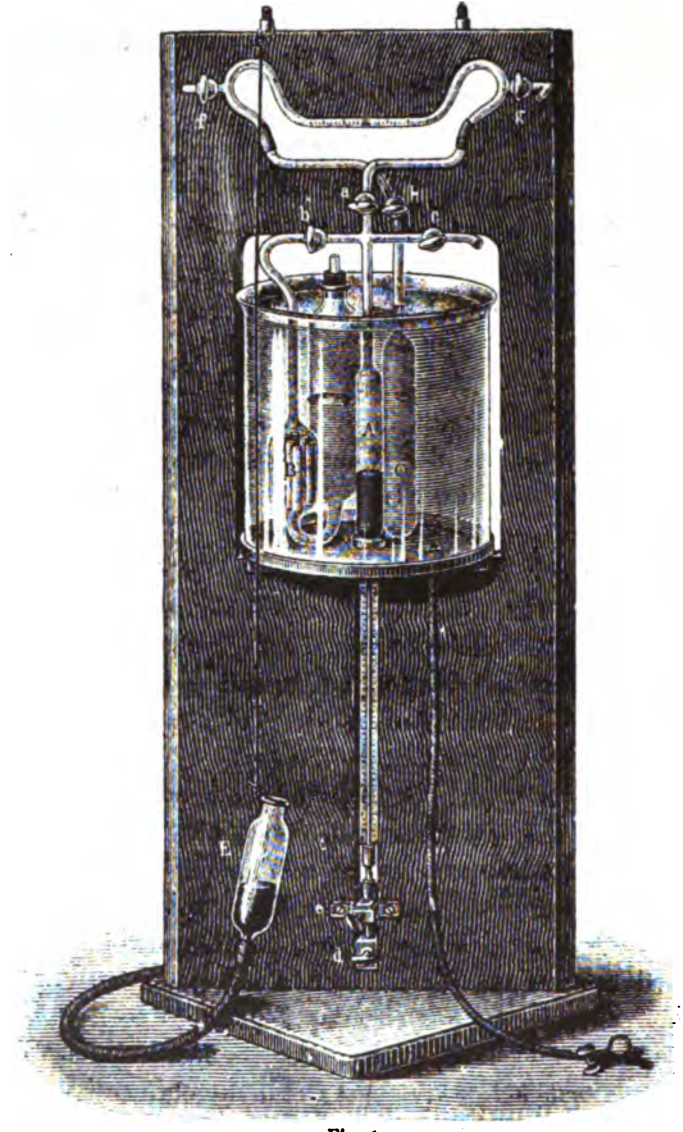


Fig. 1.

das Skalenrohr in das Wasser versenkt werden, in dem sich die übrigen Apparattheile befinden, da sich sonst die Temperaturungleichheiten störend bemerkbar machen. Das Quecksilber

kann im Skalenrohre auf's Feinste eingestellt werden, und zwar mit Hilfe der Schraube *e*, welche auf den zwischen dem Skalenrohre und dem Hahne *d* eingeschalteten Kautschukschlauch drückt und so dessen Rauminhalt beeinflusst.

Ueber das Orsatgefäss *B* ist wenig zu sagen, da seine Einrichtung aus der Figur erhellt. Es ist mit Kalilauge von 1,27 spec. Gewicht gefüllt. Sind die Hähne *a* und *c* geschlossen, *b* und *d* geöffnet, so kann man durch Heben von *E* die Luft nach *B* überführen oder von dort nach *A* wieder zurücksaugen. Es empfiehlt sich, wie Prof. Gruber gethan hat, im engen Verbindungsrohre nahe über *B* eine Ringmarke anzubringen, bis zu welcher vor und nach dem Ueberführen der Luft das Orsatgefäss mit der Lauge gefüllt werden muss.

Durch den Hahn *a* steht die Messpipette mit dem Manometer und dem Compensationsgefässe *C* in Verbindung. Auf das wenige Millimeter lange Säulchen mit Azobenzol oder Alkanna gefärbten Petroleums, welches sich im getheilten Manometerrohre befindet, wirkt bei geöffneten Hähnen einerseits der Luftdruck in der Messpipette, andererseits der Druck der Luft im Compensationsgefässe. Herrscht beiderseits gleicher Druck, dann bleibt das Säulchen in Ruhe. Herrscht Druckungleichheit, dann bewegt sich das Säulchen vom Orte höheren gegen den Ort niederen Druckes. Sind die Druckunterschiede sehr gering, so werden sie durch die Bewegung des Flüssigkeitssäulchens selbst ausgeglichen, indem die dichtere Luft sich dabei ausdehnt, während die dünnere Luft infolge der Verkleinerung des ihr zur Verfügung stehenden Raumes verdichtet wird. Bei kleinsten Druckunterschieden kommt daher die Bewegung des Petroleums bald zum Stillstande. Das Manometer ist aber ungeheuer empfindlich, so dass sehr geringe Druckunterschiede bereits im Stande sind, das Petroleumsäulchen aus dem getheilten Rohre herauszuschleudern. Diese Empfindlichkeit des Manometers bereitet bei der Handhabung des Apparates die grösste Schwierigkeit, die zu überwinden gelernt werden muss. Bezüglich der Construction dieses Apparattheiles ist noch Folgendes zu bemerken. Die Hähne *f* und *g* dienen dazu, um eine Aus-

gleichung der Drucke in Messpipotte und Compensationsgefäss mit dem Atmosphärendrucke zu ermöglichen. Sie sind unerlässlich. Unbedingt nothwendig ist ferner ein Hahn *h* am Compensationsgefässe, damit man nach Belieben die Luft in der Messpipette auch allein mit der geringen Luftmenge in der Rohrleitung zum Compensationsgefässe jenseits des Petroleums in Druckvergleich setzen könne. Es ist verständlich, dass dann die Excursionen des Petroleums auch bei grösseren Druckunterschieden klein bleiben. Endlich ist es nothwendig, beiderseits von der Manometertheilung Erweiterungen (Ampullen) in der Rohrleitung anzubringen, in denen bei zu starkem Ausschlage das Petroleumtröpfchen abgefangen und am Eindringen in *A* oder *C* verhindert wird.

Manometer und Compensationsgefäss stellen die Erfindung Pettersson's dar, durch welche er die Temperatur- und Druck-Messungen überflüssig macht. Es ist klar, dass wir im Stande des Petroleum-Säulchens ein Kennzeichen für die in der Messpipette herrschenden Drucke und Druckveränderungen haben. Haben wir am Anfange des Versuches die Luft in *A* und *C* in's Druckgleichgewicht gesetzt und die Stellung, welche das Petroleumsäulchen dabei einnimmt, notirt, so wird sich jede Veränderung des Druckes in der Messpipette infolge der mit der Luft vorgenommenen Manipulationen an einer Verschiebung des Petroleums verrathen, wenn wir die Verbindungshähne *a* und *h* wieder öffnen. Bleibt das Petroleum dabei in Ruhe, so wissen wir, dass keine einseitige Druckveränderung im Systeme stattgefunden hat. Heben oder senken wir das Quecksilber im Skalenrohre durch Drehen an der Schraube *e*, verkleinern oder vergrössern wir damit den der Luft in der Messpipette zur Verfügung stehenden Raum und bringen wir damit das aus seiner Lage verschobene Petroleumsäulchen wieder in seine alte Stellung im getheilten Manometerrohre zurück, so wissen wir, dass nunmehr die Luft in der Messpipette wieder mit der auf ihr früheres Volumen zurückgebrachten Luft im Compensationsgefässe im Gleichgewichte steht. Auf diese Weise lässt sich der Einfluss der während des Versuches etwa eingetretenen Temperaturveränderung ausschalten.

Denn diese wirkt auf den Druck der Luft in *A* und *C*, die in dieselbe Wassermasse versenkt sind, gleichmässig erhöhend oder vermindernd ein, kann daher auch für sich keine Verschiebung des Petroleums bewirken. Bei der Einstellung des Petroleum-Index auf den Platz, den er am Anfange des Versuches einnahm, wird die Spannungsänderung infolge inzwischen eingetretenen Temperaturwechsels compensirt.

Da die Luft in *A* und *C* nach Schluss der Hähne *c*, *f* und *g* von der äusseren Luft vollkommen abgesperrt ist, werden die Messungen von Aenderungen des äusseren Luftdruckes während der Versuchszeit ganz unabhängig.

Die Ausführung der Kohlensäurebestimmung gestaltet sich folgendermaassen:

In *A* und in *C* wird ein Tröpfchen Wasser eingebracht, damit die Luft stets mit Feuchtigkeit gesättigt sei.

Vor Beginn des Versuches überzeugt man sich davon, dass die Kalilauge im Orsatgefässe richtig auf die oben erwähnte Ringmarke eingestellt ist, ferner davon, dass alle Leitungen durchgängig sind, da es vorkommen kann, dass die Hahnbohrungen durch ein wenig Schmiere oder die Leitungen zum Manometer durch ein herausgeschleudertes Petroleumtröpfchen verlegt sind. Bezüglich der letztgenannten Leitungen überzeugt man sich einfach dadurch, dass man bei offenen Hähnen *a* und *h* ein wenig an der Schraube *e* dreht und so das Quecksilber im Skalenrohre hebt und senkt Der Petroleumindex muss sofort in Bewegung gerathen und der Drehung der Schraube auf's Feinste folgen.

Bei geschlossenen Hähnen *a* und *b* und offenen Hähnen *c* und *d* hebt man das Quecksilbergefäss *E* und füllt so die Messpipette bis zur Rohrkreuzung mit Quecksilber, senkt dann das Quecksilbergefäss und saugt so die Luft in die Messpipette. Man achte darauf, das Quecksilber nicht zu stürmisch aus dem Skalenrohre abfliessen zu lassen, weil sonst leicht Quecksilberkügelchen in der Pipette zurückbleiben. Die feine Einstellung auf den (in der Regel oberen) Nullpunkt geschieht nach Schluss des Hahnes *d* mit der Stellschraube *e* bei offenem Hahne *c*. Man achte darauf, dass der durch den Quecksilberdruck ausgedehnte Kaut-

schukschlauch einige Zeit zur Zusammenziehung braucht, was man abwarten muss, weil sonst das Quecksilber nach der Einstellung über den Nullpunkt steigt. Auch achte man darauf, dass der Glashahn *d* unverrückbar befestigt ist. Ich habe anfangs viele Unbequemlichkeiten daher gehabt, dass bei meinem Apparate der Hahn locker sass, bei der Benutzung verrückt wurde, dabei das Schlauchstück unter *e* in verschiedenem Maasse zerrte und damit Verschiebungen der Quecksilbersäule hervorrief.

Nachdem auf den Nullpunkt scharf eingestellt ist, wird *c* geschlossen.

Während der Füllung von *A* öffnet man für wenige Secunden die Hähne *f* und *h*, um der Luft in *C* den Ausgleich mit dem augenblicklich herrschenden Luftdrucke zu gestatten und so von vornherein Druckgleichgewicht in *A* und *C* herzustellen. Hierauf mischt man mit einer Federfahne das Wasser im Behälter gut durch. Oeffnet man jetzt nach Abschluss aller anderen Hähne *a* und *h*, so kann nur eine minimale Verschiebung des Petroleumindex eintreten. Ist der Stand des Index notirt, so schliesst man *a*, hebt das Quecksilbergefäss, öffnet *d*, wobei in *A* ein Ueberdruck erzeugt wird, und öffnet nun erst *b*. Diese Reihenfolge ist streng einzuhalten, damit nicht etwa bei Oeffnen des Hahnes *b* Kalilauge in die Pipette eintrete, wodurch der Versuch verdorben und umständliche Reinigung des Apparates nothwendig wird. Die Kalilauge darf auch niemals den Hahn *b* erreichen, weil man sonst diesen mühsam zu reinigen hat oder Gefahr läuft, dass er festgekittet und der Apparat verdorben wird.

Nach Oeffnung des Hahnes *b* treibt man die Luft in das Orsatgefäss über, indem man das Quecksilber bis zur Rohrkreuzung steigen lässt. Hierauf schliesst man *d* und wartet nun durch 7—8 Minuten, bis die Absorption der Kohlensäure vollendet ist. Hierauf öffnet man *d* wieder und lässt das Quecksilber in das gesenkte Gefäss *E* zurücklaufen; zuletzt g a n z l a n g s a m, bis die Kalilauge im Orsatgefässe bis zum Verbindungsrohre zurückgestiegen ist. Hierauf schliesst man *d* und hebt durch Drehen an Schraube *e* die Kalilauge vorsichtig wieder bis zur Marke. Dann wird *b* geschlossen.

Nun handelt es sich darum, Druckgleichgewicht mit dem in *C* abgesperrten Luftvolumen herzustellen. Hier muss man vorsichtig sein, um nicht bei grösserem Druckunterschiede durch Herausschleuderung oder Durchbrochenwerden des Index den Versuch zu verlieren. Am Besten ist es, wenn man sich von vorneherein mit Hilfe einer Vorrichtung zur approximativen Kohlensäurebestimmung z. B. mit Hilfe des Schaffer'schen Apparatchens über den ungefähren Kohlensäuregehalt der Luft orientirt. Man stellt dann nach der Absorption der Kohlensäure das Quecksilber nicht auf den Nullpunkt, sondern auf den, dem approximativen Kohlensäuregehalte entsprechenden Theilstrich ein, bevor man *a* und *h* öffnet. Weiss man von vornherein nichts über den Kohlensäuregehalt, so kann man sich vor der bezeichneten Gefahr so bewahren, dass man auf den Nullpunkt einstellt und nur *a*, nicht *h* öffnet. Herrscht ein bedenklich grosser Druckunterschied diesseits und jenseits des Index, so wird dieser eine, wenn auch kleine Ortsveränderung erleiden. Man hebt dann durch Drehen von *C* die Quecksilbersäule, je nach der Stärke des erhaltenen Ausschlages, um ein kürzeres oder längeres Stück und öffnet nun erst auch *h*. Nachdem man diese Vorsichtsmaassregeln anzuwenden gelernt hatte, wurde nur mehr sehr selten eine Analyse bei diesen Verrichtungen verloren. Man mischt nun das Wasser wieder gründlich und wartet, bis der Index bei geöffneten Hähnen *a* und *h* zur Ruhe gekommen ist. Hierauf dreht man an der Schraube *e* so lange, bis der Index wieder in seine Anfangsstellung zurückgebracht ist. Sobald dies geschehen ist, liest man den Stand des Quecksilbers an der Skale ab und erfährt so unmittelbar den Kohlensäuregehalt der Luft in Zehntausendsteln des Volumens. Auch bei diesen letzten Ablesungen achte man wieder auf die allmähliche Zusammenziehung des Schlauchstückchens unter der Schraube *e*.

Das ganze Verfahren ist viel weniger umständlich, als es nach der langen Beschreibung erscheint. Es kommt nur darauf an, sich die Reihenfolge der einfachen Handgriffe einzuprägen. Eine Kohlensäurebestimmung erfordert nicht mehr Zeit als eine Viertelstunde.

Dabei ist die Exactheit der Bestimmungen eine ausserordentlich grosse. Es sei zunächst gestattet, Reihen von Parallelbestimmungen der Kohlensäure in Luftmengen, die in grösseren Behältern gesammelt und abgesperrt waren, mitzutheilen. Es sei ausdrücklich bemerkt. dass die Reihen sämmtliche mit der bestimmten Luftsorte ausgeführten Bestimmungen enthalten.

Volum-Promille Kohlensäure.

I	II	III	IV	V	VI
0,34	0,34	0,92	0,88	1,00	2,06
0,36	0,40	0,86	0,93	1,00	2,10
0,32	0,32	0,82	0,90	1,01	2,05
0,37	0,37	0,87	0,98		
0,38	0,42		0,96		
0,34	0,40				
0,31	0,38				
0,37	0,38				

Wie man sieht, ist die Uebereinstimmung der Zahlen unter sich eine vortreffliche. Die grösste Differenz in diesen Reihen beträgt ein Zehntausendstel, was völlig mit den Angaben von Pettersson und Palmquist übereinstimmt. Entsprechen aber die erhaltenen Zahlen auch den wirklichen Kohlensäuregehalten? Um dies festzustellen, habe ich vergleichende Bestimmungen nach v. Pettenkofer's Methode angestellt.

Bevor ich die Vergleichsergebnisse mittheile, sei es gestattet, einige Angaben über die Art zu machen, in welcher diese Methode im hiesigen hygienischen Institute seit Jahren ausgeführt wird.

Als Titerflüssigkeiten dienen eine frisch bereitete Lösung von Oxalsäure oder (was vorzuziehen ist) von Kalium-Tetraoxalat, von denen jeder Cubikcentimeter 1 mg Kohlensäure entspricht; ferner das gewöhnliche Barytwasser (7 g $Ba(OH)_2$ und 0,3 g $BaCl_2$ auf 1 l), welches in den bekannten Flaschen, gegen Luftzutritt geschützt, aufbewahrt wird. Als Indicator dient Rosolsäure.

Grosse Flaschen (6—10 l) werden, sorgfältigst gereinigt und getrocknet, mit Hilfe eines Blasebalges mit der zu untersuchenden Luft gefüllt. Um das Eindringen von Exspirationsluft des

Experimentators zu vermeiden, ist in die Luftzufuhrsöffnung des Blasebalges ein langes Rohr eingesetzt, so dass die Luft hinreichend weit entfernt vom Versuchsansteller bezogen wird. Bei Probenentnahme im Freien stellt sich der Experimentator immer so, dass der Luftzug von dem Gefässe zu ihm geht. Handelt es sich um Bestimmungen im geschlossenen Raume, so wird die Luft immer mit Fächern gründlich gemischt. Insbesondere wurde bei unseren Versuchen durch beständiges Fächern während der Füllung der Proben dafür gesorgt, dass wirklich Luft ganz gleicher Zusammensetzung in die Pettenkofer'schen Flaschen und in den Pettersson'schen Apparat gelange.

Das Einfüllen des Barytwassers in die Flaschen geschah immer an dem Orte der Probenentnahme selbst, um nachträglichen Austritt oder Eintritt von Luft infolge von Temperaturveränderungen zu verhüten. Die 100 ccm-Pipette zum Aufsaugen des Barytwassers war mit einem Natriumkalkröhrchen verbunden, um das Eindringen von exspirirter Kohlensäure zu verhindern. Das Barytwasser bleibt unter häufigem Umschwenken, wobei natürlich jede Benetzung des Flaschenhalses und der Kappe vermieden wird, 1 Stunde lang mit der Luftprobe in Berührung. Nach unseren Erfahrungen genügt diese Zeit zur vollständigen Absorption der Kohlensäure. In einem Raume, der jedenfalls nicht kälter sein darf, als der Ort der Probenentnahme, wird dann, unmittelbar nachdem die Flaschenwandungen noch einmal völlig abgeschwenkt und das Barytwasser gemischt worden ist, die Kautschukkappe durch einen Pfropf ersetzt, welcher von einem beiderseits offenen, engen Glasröhrchen und ausserdem von einem ganz engen Bohrloche durchsetzt ist. An dem Glasröhrchen ist einerseits ein enger, gründlich durch Auskochen mit verdünnter Lauge gereinigter, rother Kautschukschlauch befestigt, welcher bis auf den Boden der Flasche herabreicht. Er trägt an seinem freien Ende eine kleine Filtervorrichtung (siehe umstehende Fig. 2).

Ein Glasrohr, von etwa 1 ccm lichtem Durchmesser, wird auf der einen Seite zu einem engen Röhrchen ausgezogen, zur Verbindung mit dem Kautschukröhrchen, und erhält am anderen Ende einen umgekrempten Rand. Das weite Stück wird möglichst

kurz genommen, damit der Rauminhalt des Ganzen nicht zu gross werde. Die weite Oeffnung des Röhrchens wird nun mit einer doppelten Schichte Filtrirpapier, die jederseits mit einer Schichte feiner, gut ausgewaschener Gaze bedeckt ist, welche als Stütze dient, sorgfältig überbunden.

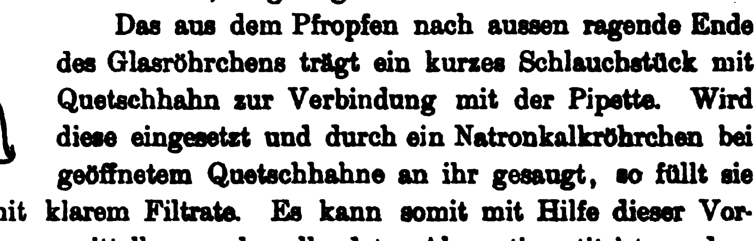


Fig. 2.

Das aus dem Pfropfen nach aussen ragende Ende des Glasröhrchens trägt ein kurzes Schlauchstück mit Quetschhahn zur Verbindung mit der Pipette. Wird diese eingesetzt und durch ein Natronkalkröhrchen bei geöffnetem Quetschhahne an ihr gesaugt, so füllt sie sich mit klarem Filtrate. Es kann somit mit Hilfe dieser Vorrichtung unmittelbar nach vollendeter Absorption titrirt werden, und es sind alle durch das Umfüllen des Barytwassers etwa zu erzeugenden Fehler ausgeschlossen.

Das Titriren des Barytwassers erfolgte in kleinen (50 ccm) Kölbchen an einem Orte mit niederem Kohlensäuregehalte der Luft, wenn nöthig am offenen Fenster. Die Berechnung der Resultate geschah immer so, dass mit Hilfe der bequemen Dittrich'schen Tabellen das Gewicht der Kohlensäure auf Volumen von dem beobachteten Drucke und Temperatur umgerechnet wurde.

Man erhält so bei sorgfältig ausgeführten Parallelversuchen fast immer nahezu vollkommen übereinstimmende Ergebnisse. Ich erlaube mir zum Beweise dessen sämmtliche Parallelbestimmungen anzuführen, die ich angestellt habe, nachdem ich die Methode beherrschen gelernt hatte.

I.	1,32 ‰	1,24 ‰	IX.	3,11 ‰	3,28 ‰
II.	1,69 »	1,70 »	X.	5,89 »	5,90 »
III.	1,67 »	1,90 »	XI.	0,42 »	0,41 »
IV.	1,44 »	1,42 »	XII.	0,34 »	0,395 »
V.	1,98 »	2,02 »	XIII.	0,50 »	0,42 »
VI.	1,17 »	1,16 »	XIV.	0,37 »	0,39 »
VII.	6,73 »	6,47 »	XV.	1,51 »	1,57 »
VIII.	4,61 »	4,60 »	XVI.	0,39 »	0,47 »

Nur zweimal finden sich grössere Differenzen: bei III eine solche von 0,23 ‰, bei VII eine solche von 0,26 ‰. Im Uebrigen unterscheiden sich die Zahlen nur um wenige Hunderttausendstel.

Ich gebe nun die Zusammenstellung der Zahlen meiner gleichzeitigen Kohlensäure-Bestimmungen nach Pettenkofer

und Pettersson-Palmquist. Stets sind die unter P.-P. verzeichneten Zahlen Mittel von mindestens 3 gut stimmenden Parallelversuchen, während die unter P. verzeichneten sämmtlich bis auf die beiden mit einem * bezeichneten, welche bloss durch eine Bestimmung gewonnen sind, die Mittel von 2 Parallelbestimmungen darstellen.

		Volum-Promille Kohlensäure P.-P.	P.	Differenz
1.	Luft in Hof u. Strasse	0,35	0,43	+ 0,08
2.		0,35	0,38	+ 0,03
3.		0,38	0,46	+ 0,08
4.		0,40	0,416	+ 0,016
5.	Zimmer-Luft	1,75	1,79	+ 0,04
6.		1,65	1,80*	+ 0,15
7.		1,40	1,43	+ 0,03
8.		1,87	2,00	+ 0,13
9.	Zimmerluft	1,05	1,165	+ 0,115
10.		1,50	1,54	+ 0,04
11.		6,25	6,60	+ 0,35
12.		4,55	4,605	+ 0,055
13.		3,03	3,17	+ 0,14
14.		2,03	2,18*	+ 0,15
15.		5,85	5,895	+ 0,045

Nach Durchsicht dieser Tabelle kann kein Zweifel bezüglich der Verlässlichkeit der nach dem neuen Verfahren von P.-P gewonnenen Zahlen übrigbleiben. Mit einziger Ausnahme der Mittel unter 11 besteht eine so grosse Uebereinstimmung, als sie überhaupt erwartet werden kann. Bei den Bestimmungen nach P. in der Probe 11 sind wahrscheinlich kleine Fehler vorgekommen. Ich habe aber diese Zahlen nicht verschweigen zu dürfen geglaubt, da ich die Fehler nicht zu entdecken vermochte. Durchgehends sind die nach Pettenkofer's Methode erhaltenen Zahlen etwas höher als die nach P.-P. gewonnenen, was wahrscheinlich mit der wohl nicht ganz vermeidlichen Absorption von Kohlensäure aus der Luft während des Titrirens zusammenhängt. [1])

Wenn wir auch, wie aus den vorstehenden Mittheilungen wieder hervorgeht, in dem Pettenkofer'schen Verfahren eine ausgezeichnete Methode der Kohlensäurebestimmung in der Luft besitzen, so dürfte doch dem Pettersson-Palmquist'schen hoher Werth nicht abzusprechen sein, freilich nur unter der Voraussetzung einer so vortrefflichen Ausführung des Apparates, wie sie von Franz Müller gewährleistet wird. Namentlich dann, wenn es sich darum handelt, in kurzer Zeit eine grössere Anzahl

1) Vergl. Bitter, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IX, S. 1 u. ff.

möglichst exacter Kohlensäurebestimmungen, z. B. behufs Ermittelung der Lüftung von Räumen, auszuführen, wird es sich durch seine Raschheit empfehlen. Z. B. wurde die oben angeführte Serie I von 8 Bestimmungen in 7 Viertelstunden ausgeführt, und dabei ist man nur während der Hälfte der Zeit am Apparate beschäftigt.

Auch die Handlichkeit des Apparates bietet oft grossen Vortheil. Auch die Einfachheit seiner Füllung mit der zu untersuchenden Luft ist hervorzuheben. Auch ein Laie kann sie mit Sicherheit ausführen. Schickt man ihm den Apparat mit mit Quecksilber gefüllter Pipette zu, so braucht er nur den Hahn *c* zu öffnen und nach dem Abfliessen des Quecksilbers wieder zu schliessen, und dann kann der Apparat in's Laboratorium zurückgebracht und dort die Analyse vom Fachmann vorgenommen werden.

Für die Luftprobeentnahme ausserhalb des Laboratoriums ist aber noch viel mehr der von Fossek[1]) angegebene Apparat zu empfehlen. 3 Glaskugeln von je 150 ccm Inhalt können von einem gemeinsamen beweglichen Quecksilber-Reservoire aus mit Quecksilber gefüllt und dann einfach durch Ablaufenlassen des Quecksilbers mit der Untersuchungsluft gefüllt werden. Auch hierbei handelt es sich nur um das Oeffnen und Schliessen der Hähne. Das Ganze ist in einem bequemen Holzkästchen untergebracht. Im Laboratorium werden dann Proben der Luft in den Pettersson-Palmquist'schen Apparat übergetrieben.

Nachschrift. Fossek's Vorrichtung scheint mir auch zwekmässiger zu sein, als die mir erst nachträglich bekannt gewordene, von Pettersson und Palmquist angegebene (Forschungen auf dem Gebiete der Agriculturphysik, Bd. XVI, Heft 1 und 2); wenn es sich nicht etwa um Versandt auf weitere Entfernungen handelt. — Auch die neuerliche Vergrösserung der Luftpipette auf 60 ccm dürfte bei hygienischen Untersuchungen eher Nachtheil als Vortheil bringen.

1) Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch., II, Mai 1887.

Ueber die Einwirkung von Wein und Bier, sowie von einigen organischen Säuren auf die Cholera- und Typhus-Bacterien.

Von

Dr. Alois Pick,
Regimentsarzt und Universitätsdocent.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Wien.)

Die Frage, wie man der Gefahr einer Cholera- oder Typhus-Infection durch Trinkwasser vorbeugen könne, ist bekanntlich Gegenstand lebhafter Erörterungen und Bestrebungen. Seit jeher wurde nun zu Zeiten herrschender Typhus- oder Cholera-Epidemien als Schutzmittel empfohlen, dem Trinkwasser vor dem Genusse Wein zuzusetzen. Die weit verbreitete Meinung, dass man auf diese Weise die vom Trinkwasser etwa drohende Gefahr beseitigen könne, ist aber bisher einer exacten Prüfung auf ihre Berechtigung noch nicht unterworfen worden. Ich habe zu diesem Ende Versuche angestellt, über deren einige bereits im vorigen Herbste im Centralblatte für Bacteriologie und Parasitenkunde 12. Bd. Nr. 9 S. 293, sowie von Herrn Prof. Gruber in einem im Wiener medicinischen Doctoren-Collegium gehaltenen Vortrage (Wiener med. Presse 1892 Nr. 42) kurz berichtet worden ist. Bis dahin lag nur eine gelegentliche Angabe von Babes (Virchow's Archiv 99. Bd. 1885) vor, dass Choleravibrionen im Wein und Bier binnen 24 Stunden absterben. Seither wurden in den Veröffentlichungen des kaiserl. Gesundheitsamtes XVI. Bd. Nr. 42 S. 812 die Ergebnisse der in diesem Amte mit Bier und Wein an Choleravibrionen angestellten Versuche kurz mitgetheilt, die nicht sehr weit von meinen bezüglichen Ergebnissen abweichen.

Die vorhandenen Abweichungen werden vermuthlich aus der verschiedenen Versuchsanordnung zu erklären sein, was sich erst entscheiden lassen wird, wenn die ausführlichen Berichte vorliegen.

Die ersten, schon veröffentlichten Ergebnisse haben mich veranlasst, der Sache etwas weiter nachzugehen und insbesondere zu prüfen, ob sich nicht auf meine Beobachtungen ein einfaches Verfahren, dem Wasser seine etwaige Infectiosität zu nehmen, gründen lasse.

I. Cholera-Vibrio.

Kräftige, junge, meist 24stündige, Agarculturen des Choleravibrio wurden vorsichtig vom Nährboden abgehoben und in sterilisirtem Wasser aufgeschwemmt; die frisch bereiteten filtrirten Aufschwemmungen in bestimmtem Verhältnisse mit der zu prüfenden Flüssigkeit vermischt; von den Gemischen nach bestimmten Fristen mittels der Platinöse kleine Tröpfchen auf geeignete Nährboden, Nähr-Gelatine oder Nähragar, meist in peptonisirte Bouillon übertragen und die Entwickelung der Aussaaten abgewartet. Die Aufschwemmungen des Choleravibrio wurden stets so dicht gemacht, dass in jedem Tröpfchen der Gemische viele Tausende von Keimen enthalten waren. Andererseits wurde auf's Sorgfältigste dahin getrachtet, jede Mitübertragung von Nährboden in die Aufschwemmung zu vermeiden und die Keime so vollkommen als möglich von einander zu sondern, damit die Bedingungen der Einwirkung denen, wie sie im Wasser gegeben sind, soviel als möglich ähnlich würden.

Bei den Versuchen mit Wein stellte es sich bald heraus, dass die in diesem Genussmittel, namentlich in den billigeren, aus dem Fasse laufenden Schanksorten, reichlich enthaltenen Bacterien, Hefe- und Rahmpilzkeime die Beobachtung ungemein erschwerten. Es wurden daher die Weine vor ihrer Verwendung in nahezu voll gefüllten, dicht verschlossenen Flaschen an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 1/4 Stunde lang auf 70° erwärmt, also ausgiebig pasteurisirt, was sich vortrefflich bewährte.

Ich habe so mehrere Sorten österreichischer und ungarischer Weine auf ihr Verhalten gegen Choleravibrionen verschiedener Abstammung geprüft, nämlich: gewöhnlichen weissen und rothen Tischwein von geringem Preise, ferner die niederösterreichischen Weine: Gaunersdorfer (weiss), Gumpoldskirchner (weiss), Mailberger (weiss), Vöslauer (roth), ferner rothen Dalmatiner (Refosco) und rothen Szégszárder (Ungarwein); alle letztgenannten von einer der angesehensten Wiener Firmen bezogen. 20 ccm der betreffenden Weine wurden zunächst in unverdünntem Zustande mit je 1 ccm der Vibrio-Aufschwemmung vermischt, dann nach 5 Minuten die erste Aussaat gemacht. Es zeigte sich ausnahmslos, dass die Choleravibrionen durch die genannten Weine innerhalb dieser Frist sammt und sonders abgetödtet worden waren.

Nun wurden die Verdünnungen der Weine mit Wasser auf ihre Wirksamkeit geprüft. Dabei ergab sich Folgendes:

Alle Verdünnungen der Weine mit sterilisirtem Wasser bis zu dem Verhältnisse von 1 Theil Wein zu 3 Theilen Wasser herab waren bereits 5 Minuten nach dem Zusatze von 1 ccm Aufschwemmung von Choleravibrionen verschiedenster Herkunft zu je 20 ccm der Verdünnung vollkommen steril. Auch in ihnen waren also die Cholerakeime innerhalb der angegebenen Frist ausnahmslos zu Grunde gegangen.

Bei dem Verdünnungsverhältnis 1 : 4 tödteten der Vöslauer und Szegszarder die Vibrionen aus einer von einem Hamburger Falle stammenden zweitägigen Agarcultur erst binnen 5 bis 10 Minuten vollständig ab, während alle anderen Weine auch in dieser Verdünnung noch binnen 5 Minuten völlige Abtödtung bewirkten, ebenso wie die beiden genannten Weine Vibrionen anderer Herkunft in dieser Zeit tödteten.

Als die Verdünnungen noch weiter getrieben wurden, stellten sich Abweichungen im Verhalten der verschiedenen Weinsorten und Vibriogenerationen in erhöhtem Maasse ein, was aus der Tabelle I (Seite 54) entnommen werden möge.

Man ersieht aus ihr, dass der Wein gegenüber dem Choleravibrio eine erstaunlich energische Desinfectionskraft ausübt. Selbst noch in 11facher Verdünnung tödteten drei Weine die Cholera-

vibrionen binnen 10 Minuten, einer binnen 15 Minuten. Nur eine Sorte, der Szegszarder, zeigte sich gegenüber den kräftigsten Vibriogenerationen auffällig schwächer, indem es einmal vorkam, dass die Verdünnung 1 : 5 selbst nach 30 Minuten noch nicht vollkommen steril war.

Tabelle I.

Zeitdauer der Einwirkung	Weisser Tischwein			Mailberger		Gumpoldskirchener				Szegszarder		Vöslauer	
	1 : 6	1 : 8	1:10	1:5	1:10	1:5	1:6	1:8	1:10	1:5	1:10	1:5	1:10
5 Minuten	−	−	+	− −	− +	− − +	+	+	+ + + +	+ − + +	+ + + +	− − − + + +	+ + − + + +
10 »	−	−	−	− −	− −	− − −	−	−	− − − −	+ − − +	+ + − +	− − − − − −	+ − − − + +
15 »	−	−	−	− −	− −	− − −	−	−	− − − −	+ − − +	+ + − +	− − − − − −	− − − − − −
30 »	−	−	−	− −	− −	− − −	−	−	− − − −	− − − +	+ − − −	− − − − − −	− − − − − −

Für die Praxis ergibt sich das nicht unwichtige Resultat, dass ein mit Choleravibrionen beladenes Wasser ohne Schaden und Gefahr getrunken werden könnte, nachdem es, im Verhältnisse von 1 : 3 mit Wein vermischt, mindestens 5 Minuten lang gestanden hat.

Eine wesentlich geringere, aber immerhin noch recht ansehnliche, desinfectorische Wirksamkeit zeigten auch die Biere, welche, wie die folgende Tabelle zeigt, die Choleravibrionen binnen 5 bis längstens 15 Minuten abtödteten.

Tabelle II.

Zeitdauer der Einwirkung	Abzugsbier	Wiener Lagerbier	Münchener Spatenbier Exportflaschen	Pilsener Flaschenbier
	0,06 % Milchsäure	0,166 % und 0,200 % Milchsäure	?	0,076 % Milchsäure
5 Minuten	—	— + + —	+ +	+ +
10 »	—	— — + —	— —	— —
15 »	—	— — — —	— —	— —
30 »	—	— — — —	— —	— —

Die Gefahr, im Biere die Cholerakeime aufzunehmen, ist daher jedenfalls sehr gering.

Es war nun aber, auch vom praktischen Standpunkte aus, interessant, nachzuforschen, welchem Bestandtheile denn Wein und Bier ihre Wirksamkeit verdanken. Es war dabei vor Allem an den Alkohol und an die freien Säuren zu denken. Die Aufklärung darüber war bald erlangt. Es stellte sich heraus, dass der Alkohol keinen wesentlichen Antheil an der Desinfectionswirkung von Wein und Bier hat, sondern diese fast ausschliesslich durch die Gegenwart von freien Säuren bezw. sauren Salzen in diesen Genussmitteln bedingt ist.

Z. B. enthielt der billige weisse Tischwein 6,71 % Alkohol und 0,7 % freie Säure (als Weinsäure berechnet), der billige Rothwein 8,07 % Alkohol und 0,65 % Säure. Der Alkohol wurde durch Destillation entfernt. Der Rückstand, durch Wasserzusatz auf das alte Volumen gebracht, erwies sich unverändert wirksam. Nachdem dagegen die beiden Weine bei unverändertem Alkohol-

gehalte vorsichtig neutralisirt worden waren, hatten sie ihre bacterientödtende Wirksamkeit vollständig eingebüsst.

Ganz ebenso verhielt es sich mit den anderen Weinen und mit den Bieren. Neutralisation vernichtete ihre Wirksamkeit.

Directe Versuche lehrten dasselbe. Erst in sehr viel höheren Concentrationen, als in den Weinen und Bieren vorkommen, tödtet Alkohol den Choleravibrio rasch. Kornbranntwein mit einem Alkoholgehalte von 44,45 % tödtete in unverdünntem Zustande den Choleravibrio binnen 5 Minuten; zu gleichen Theilen mit Wasser verdünnt (22,23 %) binnen 10 Minuten; dagegen auf's Vierfache verdünnt (11,12 %) noch nicht innerhalb 5 Stunden.

Naturgemäss lenkte sich nun die Aufmerksamkeit auf die organischen Säuren, deren Wirksamkeit gegen den Choleravibrio bisher offenbar noch nicht richtig geschätzt worden war. Die verwendeten Weinsorten enthielten folgende Säuremengen (als Weinsäure berechnet):

Weisser Tischwein .	0,70 %	Gumpoldskirchner .	0,79 %
Rother Tischwein .	0,65 %	Dalmatiner	0,65 %
Szegszarder	0,75 %	Vöslauer	0,67 %
Gaunersdorfer . . .	0,76 %	Mailberger	0,88 %

Mit Ausnahme des Szegszarder (dessen abweichendes Verhalten nicht aufgeklärt wurde) zeigten sich alle diese Weine noch in 11facher Verdünnung binnen 10 Minuten wirksam, d. h. also, falls die Wirkung von den freien Säuren ausging, waren 0,6 bis 0,08 % freie organische Säure bezw. Weinstein hinreichend, um in dieser Zeit den Vibrio zu tödten. Auch dies musste durch besondere Versuche sichergestellt werden.

Zunächst wurde es mit gesättigter Weinsteinlösung versucht. Eine solche Lösung enthält bei 20° C. 0,56 % Weinstein. Wieder wurden 20 ccm der Lösung mit 1 ccm Vibrio-Aufschwemmmung vermischt. 5 Minuten nachher waren noch lebende Keime im Gemische vorhanden; nach 10 Minuten geprüft, war aber die Flüssigkeit völlig steril. Immerhin ist die Wirksamkeit des Weinsteines geringer als die des Weines, in dem ja auch freie Säure neben Weinstein vorhanden ist.

Die Versuche mit den freien Säuren wurden zumeist so angestellt, dass gleiche Volumina Vibrio-Aufschwemmung und Säurelösung mit dem Doppelten der zu prüfenden Concentration zusammengemischt wurden. Es wurden bloss die billigeren, leicht erhältlichen, im Grossen erzeugten Säuren, Essigsäure, Milchsäure, Weinsäure und Citronensäure, auf ihr Verhalten geprüft. Auch diesmal liess man die Flüssigkeiten auf Vibrionen verschiedener Abkunft einwirken. Die Versuchsergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle übersichtlich geordnet.

Tabelle III.

Zeitdauer der Einwirkung	Essigsäure				Milchsäure				Weinsäure			Citronensäure			
	2 ‰	1 ‰	0,5 ‰	0,25 ‰	2 ‰	1 ‰	0,5 ‰	0,25 ‰	2 ‰	1 ‰	0,5 ‰	2 ‰	1 ‰	0,5 ‰	0,25 ‰
5 Minuten	−	+	+	+	− −	− −	− +	+ +	− −	+ −	+ +	− −	− − + +	+ + + +	+ +
10 »	−	−	+	+	− −	− −	− −	+ −	− −	− −	+ −	− −	− − − +	− + + +	+ −
15 »	−	−	+	+	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− − − −	− − − +	− −
30 »	−	−	−	−	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− − − −	− − − −	− −

In der Concentration von 2 ‰ tödten also alle 4 Säuren den in Wasser schwebenden Choleravibrio binnen 5 Minuten. In der Concentration von 1 ‰ tödteten die Säuren mit niedrigerem Molekulargewichte die Vibrionen binnen 10 Minuten, während die Citronensäure dies in einem von 4 Fällen erst binnen 15 Minuten vollbrachte. Bei Concentrationen von ½ ‰ musste man mindestens ½ Stunde warten, um der Abtödtung sicher zu sein.

Mit Rücksicht auf das praktische Leben wurden auch noch Essig und frisch ausgepresster Citronensaft der Prüfung

unterworfen. Wie nach dem Säuregehalte dieser Flüssigkeiten zu erwarten war, haben auch sie sich als sehr wirksam erwiesen.

Tabelle IV.

Zeitdauer der Einwirkung	Essig				Citronensaft (frisch ausgepresst)			
	10 Vol. % = 3,54 ‰ Säure	5 Vol. % = 1,77 ‰ Säure	2,5 Vol. % = 0,89 ‰ Säure	1,25 Vol. % = 0,45 ‰ Säure	2,9 Vol. % = 2 ‰ Säure	1,45 Vol. % = 1 ‰ Säure	0,725 Vol. % = 0,5 ‰ Säure	0,3625 Vol. % = 0,25 ‰ Säure
5 Minuten	—	+	+	+	+	+	+	+
10 »	—	—	—	+	—	—	+	+
15 »	—	—	—	—	—	—	—	—
30 »	—	—	—	—	—	—	—	—

Da nicht selten auch Zusatz von Thee und Kaffee zum Wasser als Präservativ empfohlen wird, so habe ich auch einige Versuche über die Wirkung von bereits fertigem kaltem Thee und Kaffee auf die Cholera-Vibrionen angestellt. Die beiden Genussmittel wurden genau nach der in der österreichischen Armee geltenden Vorschrift [1]) bereitet und unverdünnt, und zwar sowohl ungezuckert wie gezuckert, angewendet. Das Ergebnis war völlig unbefriedigend, indem in keinem Falle innerhalb $^1/_2$ Stunde die Abtödtung erreicht werden konnte. Selbstverständlich ist an eine nennenswerthe Wirkung noch weniger zu denken, wenn die beiden Getränke noch weiter mit Wasser verdünnt werden. Wenn daher auch die Abkochung des Wassers bei der Bereitung von Thee und Kaffee natürlich absoluten Schutz gegen jene Keime gewährt, die schon im Wasser drin sind: die fertigen abgekühlten Getränke haben keine nennenswerthe antiseptische Wirksamkeit. Ich glaube nicht zu irren, wenn ich den von mir bezüglich der organischen Säuren gewonnenen Ergebnissen eine nicht geringe praktische Bedeutung beimesse. Die Mengen von organischen Säuren, welche zur sicheren Befreiung des Wassers von Cholerakeimen erforderlich sind, sind so gering, dass Jedermann eine für grosse Wassermengen ausreichende Quantität der festen Säuren,

1) Die österr. Verpflegs-Vorschrift gewährt 6 g Thee und 25 g Zucker für Thee, 25 g Kaffee und 25 g Zucker für Kaffee.

Weinsäure oder Citronensäure ohne Beschwer mit sich tragen kann. Bei Herstellung höherer Concentrationen, z. B. einer solchen von 2 ‰ Säuregehalt, wird das Ziel so rasch erreicht, dass das Verfahren auch im Felde anwendbar wäre. Organische Säuren in dieser Verdünnung schmecken sehr angenehm (die nach der Vorschrift des österreichischen Pharmakopoë bereitete Limonade enthält ca. 4 ‰ freie Säure). Wird noch ein wenig Zucker zugesetzt, so erhält man ein allgemein beliebtes, erfrischendes, völlig harmloses Getränk. Das kostspielige, umständliche Abkochen des Wassers, die oft undurchführbare Filtration desselben sind damit, wenn es sich bloss um die Verhütung der Cholerainfection durch Wasser handelt, überflüssig gemacht, was namentlich für Reisende, Soldaten u. s. w. von Nutzen ist.

2. Typhus-Bacterium.

Leider waren, wie von vornherein zu erwarten war, die Erfolge gegenüber den Typhusbacterien nicht ebenso günstig. Schon der unverdünnte Wein muss auf sie sehr viel länger als auf die Choleravibrionen einwirken, um sie sicher zu tödten, wie die folgende Zusammenstellung lehrt.

Tabelle V.

Die Typhusbacterien werden getödtet durch:				
Weissen Tischwein	Rothen Tischwein	Vöslauer	Szegszarder	Mailberger
nicht binnen ½ Stunde	nicht binnen ½ Stunde	binnen 15 Minuten (n)[1]	binnen 1 Stunde (a und c)	binnen 5 Minuten (a) binnen 10 Minuten (c) nicht binnen 30 Minuten (n) binnen 10 Minuten (n)

1) Die Buchstaben bezeichnen verschiedene Generationen.

Schon in der Verdünnung mit dem gleichen Volumen Wasser ist seine Wirkung so gering, dass in keinem Falle binnen einer halben Stunde Abtödtung erzielt werden konnte, wie Versuche mit dem gewöhnlichen weissen und rothen Tischweine, sowie mit dem Mailberger, der sich in unverdünntem Zustande am wirksamsten gezeigt hatte, lehrten. Damit ist die praktische Bedeutung des Weinzusatzes zum Wasser wohl genügend gekennzeichnet.

Ebenso erweisen sich Lager- und Abzug-Bier innerhalb der praktisch in Betracht kommenden Fristen bis zu einer halben Stunde nicht genügend wirksam.

Kornbranntwein tödtete in unverdünntem Zustande frisch aus der Leiche gezüchtete Typhusbacterien allerdings binnen 5 Minuten, aber bereits die Verdünnung mit dem gleichen Volumen Wasser tödtete die Typhuskeime innerhalb ½ Stunde nicht mehr.

Auch die Versuche mit den organischen Säuren gaben wesentlich ungünstigere Resultate. Lösungen der Citronensäure in den Stärken von 1 ‰ bis 1 % waren in praktischem Betrachte wirkungslos. Erst in Stärken von 2 % und darüber äussern die Säuren kräftigere Wirkungen auf die Typhusbacterien. Diese Mengen sind aber zu gross, als dass sie zur Desinfection von Trinkwasser benützt werden könnten.

Tabelle VI.

Die Typhusbacterien werden abgetödtet durch:¹)

Conc.	Ameisensäure	Essigsäure	Weinsäure	Citronensäure
2 %	binnen 5 Minuten (n)	binnen 5—10 Minuten (n)	binnen 10—20 Min. (n) binnen 15—30 Min. (c)	binnen 30—60 Min. (n) » 15—30 » (a) » 15—30 » (c)
3 %	binnen 1 Minute (n)	binnen 5 Min. (2 mal n)	binnen 10—20 Min. (n) binnen 15—30 Min. (c)	binnen 10—20 Min. (n) » 10—15 » (a) nicht binnen 30 Minuten (c)
5 %		binnen 5 Min. (a, c und n)	binnen 5—10 Min. (c)	binnen 5 Minuten (c) » 5—10 Min. (a)

1) Die Buchstaben bezeichnen verschiedene Generationen.

Die vorstehende Tabelle zeigt, dass die verschiedenen Generationen des Typhusbacteriums, die den Versuchen unterworfen wurden, nicht unerheblich verschiedene Widerstandskraft besassen. Trotzdem lässt dieselbe die theoretisch interessante Thatsache auf's Deutlichste erkennen, dass die Wirksamkeit der Säuren mit ihrem Moleculargewichte in umgekehrtem Verhältnisse steht. Dasselbe beträgt bei Ameisensäure 46, bei Essigsäure 60, bei Weinsäure 250, bei Citronensäure 192. Es scheint, dass es nicht allein darauf ankommt, welchen Bruchtheil vom Molekulargewichte das Gewicht der offenbar allein wirksamen Carboxylgruppen ausmacht. Die Grösse dieses Bruchtheiles beträgt bei Ameisensäure 97,7 %, bei Essigsäure 53,3 %, bei Weinsäure 60 %, bei Citronensäure 70,3 %. Er ist also bei der viel weniger wirksamen Citronensäure beträchtlich grösser als bei der Essigsäure, und die Wirksamkeit der Säuren nimmt also nicht genau im Verhältnisse zur Zahl ihrer Carboxylgruppen zu. 3 Carboxylgruppen im selben Moleküle sind nicht so wirksam wie 3 Carboxyle in 3 Molekülen.

Bei der Ausführung der vorstehend mitgetheilten Versuche hatte ich mich beständig des Rathes und der Beihilfe des Assistenten am hygienischen Institute, Herrn Dr. Adolf Heider, zu erfreuen. Ich sage ihm dafür meinen wärmsten Dank. Herr Demonstrator mag. pharm. Max Teich hatte die Freundlichkeit, die hier berichteten quantitativen Bestimmungen der Alkohol- und Säuremengen vorzunehmen, wofür ich ihm ebenfalls bestens danke.

Das Verfahren von Babes zur Gewinnung von keimfreiem Wasser.

Von

mag. pharm. **Max Teich,**

Demonstrator am hygienischen Universitätsinstitute in Wien.

Im XII. Bande des Centralblattes für Bacteriologie und Parasitenkunde S. 132 ff. haben V. und A. Babes ein einfaches Verfahren angegeben, durch welches nach ihren Versuchen keimfreies Wasser zu gewinnen ist. Es handelt sich um eine Anwendung des oft versuchten Principes, die Schwebestoffe und darunter auch die Keime durch Erzeugung von Niederschlägen aus dem Wasser zu entfernen. Die Verf. glauben sich überzeugt zu haben, dass der längst zur Wasserklärung verwendete Alaun zu diesem Zwecke völlig geeignet ist, und haben die praktisch wichtige Thatsache festgestellt, dass von dieser Verbindung weit geringere Mengen genügen, als nach den bisherigen Vorschriften dem Wasser zugesetzt werden; Mengen, die hygienisch bedeutungslos sind.

Die Verff. empfehlen schliesslich einen einfachen Apparat, der nach Ablauf von 18 bis 20 Stunden 2 bis 5 Tage lang bacteriologisch tadelloses Wasser liefern soll.

Ueber Auftrag Herrn Prof. Gruber's habe ich dieses Verfahren der Prüfung unterworfen. Da die Ergebnisse derselben den Werth derartiger Fällungsverfahren überhaupt zu beleuchten im Stande sein dürften, erlaube ich mir dieselben hier mitzutheilen.

Zunächst versuchte ich, mich durch einige Vorversuche über den Werth des Verfahrens zu orientiren. Es schien mir er-

wünscht, mich von dem chemischen Vorgange nach Zusatz des Alauns zu überzeugen. Wiener Leitungswasser mit ca. 10,5 Härtegraden wurde mit einer, der grösseren von Babes vorgeschriebenen Dosis entsprechenden, Menge Alaunpulver (0,3 g pro Liter) versetzt. Nach vollendeter Klärung wurde der Gehalt des Wassers an Schwefelsäure und Thonerde bestimmt. Es zeigte sich, dass der Alaun in der That vollständig zersetzt worden war, indem das geklärte Wasser im Liter nur 2 mg Thonerde enthielt, während die ganze Menge der Schwefelsäure im Wasser aufgefunden werden konnte. Der Zuwachs an Schwefelsäure bzw. an Gyps ist selbst bei Anwendung der grösseren Alaundosis nicht bedenkenerregend. Er beträgt 101,26 mg SO_3 bzw. 217,14 mg pro Liter. — Nach der Rechnung genügt bei Verwendung der kleineren Alaundosis eine Härte von 3,55 °, bei der grösseren Dosis von 7,1 ° zur vollständigen Zersetzung des Alaunes. In chemischer Beziehung wäre also gegen die Anwendung des Babes'schen Verfahrens kaum etwas einzuwenden. Auch der Geschmack des mit Alaun versetzten Wassers ist tadellos.

Bis zum Eintreffen der Originalapparate wurden ferner auch einige bacteriologische Vorversuche unter Verwendung zweier grossen Flaschen von 7,5 und 5,5 l Inhalt angestellt. Wir wollten bei diesen Versuchen hauptsächlich sehen, ob sich die Bacterienflora verschiedener Wässer dem Alaune gegenüber gleich oder ungleich verhalte.

Die Flaschen wurden nach sorgfältiger Reinigung, aber in absichtlich nicht sterilisirtem Zustande, mit dem betreffenden Wasser gefüllt. Dann wurde das Alaunpulver, und zwar die kleinere Dosis, 0,15 g pro Liter, eingebracht, gründlich gemischt, sofort nach der Mischung der Keimgehalt durch Anfertigung von Gelatineplatten ermittelt; dann die Flaschen mit einem sterilisirten Becherglase bedeckt, an einem kühlen Orte erschütterungsfrei aufbewahrt. Nach gemessenen Zeiten werden mit sterilisirter Pipette Wasserproben zur Untersuchung entnommen und dabei die grösste Behutsamkeit angewendet, um nichts von dem Niederschlage in die Proben hineinzubekommen.

Es war dies nicht immer leicht, und die eine oder andere Unregelmässigkeit im bacteriologischen Befunde mag dadurch bedingt sein, dass doch ein Niederschlagsflöckchen in die untersuchte Probe gelangte Denn die Senkung der Niederschläge war durchaus nicht immer eine sehr vollkommene. Theilchen der Niederschläge hafteten an den Wandungen oder wurden durch Gasbläschen an die Flüssigkeitsoberfläche emporgeführt und konnten sich so dem geklärten Wasser beimischen.

Das Ergebnis der einschlägigen 8 Versuche ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

Colonien aus 1 ccm Wasser.

Wassersorte:	Wiener Leitungswasser		Leitungswasser und Brunnenwasser gemischt		Leitungswasser u. Donaukanalwasser zu gleichen Theilen		Leitungswasser u. Donaukanalwasser zu gleichen Theilen gemischt	
Wassertemperatur:	5—9,5°		9,5—10,5°		9—11°		9—10°	
Unmittelbar nach dem Alaunzusatze	41	51	193	Unzählig	8006	Unzählig	4188	3985
nach 18 St.	2	—*	208[1])	445	313	964	315	243
nach 24 St.	—*	—*	11	215	374	1049	375	717
nach 48 St.	—*	—*	25	66	843	1495	1889	959
nach 72 St.	—*	—*	806	5141	2249	2245	5587	1900
	* Hier und dort vereinzelt zumeist oberflächliche Colonien		1) Vielleicht durch etwas Niederschlag verunreinigt.					

Es ist durchaus nicht befriedigend. Nur bei der Klärung des zur Zeit der Untersuchung sehr keimarmen Leitungswassers wurde wirklich binnen 18 Stunden Keimfreiheit erreicht und durch 2 volle Tage erhalten. In allen anderen Fällen wurde zwar der Keimgehalt durch das Fällungsverfahren wesentlich, allerdings in sehr ungleichem Maasse erniedrigt, allein nie vollständig beseitigt und meist trat bereits im Laufe des 2., immer im Laufe des 3. Tages wieder starke Keimvermehrung ein.

Trotz dieser wenig ermunternden Ergebnisse wurden doch noch einige Versuche mit den inzwischen eingetroffenen Apparaten angestellt.

Die von uns benützten Originalapparate waren Gefässe von ca. 20 l Inhalt, etwa von der Gestalt eines Erlenmeyerkolbens aus emaillirtem Eisenblech hergestellt. In dem Gefässe befinden sich, um eine vertikale Achse drehbar, durchlochte Schaufeln aus emaillirtem Bleche angebracht, durch deren Bewegung gründliche Mischung des Gefäss-Inhaltes bewerkstelligt werden kann.

In der Mitte des Bodens befindet sich ein beiderseits offenes, durch einen Hahn verschliessbares Rohr, welches ca. 8 cm weit in das Innere hineinragt, hier mit der Oeffnung nach abwärts gekrümmt ist und zum Ablassen des geklärten Wassers dient. Von der Füllung von ca. 20 l konnten bei unseren Apparaten ca. 16 l abgelassen werden. Der Wasserbehälter ist von einem Blechmantel umhüllt, der so gebildete Mantelraum zur Aufnahme von Eis oder Kühlwasser bestimmt. — Jedem Apparate ist ein ca. 3 g Alaunpulver fassender Messlöffel beigegeben. — Nach der Vorschrift soll das Gefäss mit Wasser gefüllt, dann 1 oder 2 Löffel voll Alaunpulver (= 3 bis 6 g) zugesetzt werden. Mit Hilfe der Schaufeln wird hierauf die Lösung beschleunigt und Alles gut gemischt. Dann wird der Rührer entfernt und der Behälter, gut bedeckt, durch 18 bis 20 Stunden sich selbst überlassen, bis die Klärung und Senkung vollzogen ist. — Der erste abgezogene halbe Liter ist zu entfernen, weil darin Unreinigkeiten aus dem Ablassrohre enthalten sein können. — Am Abende des 2. bis 4. Tages ist der Rest des geklärten Wassers vollständig abzulassen und zum Gebrauche gekühlt aufzubewahren, der Bodensatz durch eine eigene Oeffnung abzulassen und der Apparat durch Spülung, zuletzt mit sterilisirtem Wasser zu reinigen.

Es war von vornherein denkbar, dass die Flaschenversuche infolge unvollkommener Senkung der Niederschläge kein zufriedenstellendes Resultat gegeben hätten, und dass die in ihrem Baue ausgeprobten Apparate Besseres leisten würden. Allein das Resultat blieb auch hier im wesentlichen dasselbe, wie die Tabelle II (Seite 66) lehrt.

Der Keimgehalt wurde zwar zumeist binnen 24 Stunden ganz wesentlich vermindert (um 93—99, einmal nur um 66 %); allein niemals ganz beseitigt. In allen Fällen stieg er bereits in den

folgenden 48 Stunden, und zwar oft höchst bedeutend wieder an, so dass in einem Falle sogar schon nach 48 Stunden der ursprüngliche Keimgehalt überflügelt war.

Indessen sollte über das Verfahren, das ja ohne Zweifel den Vorzug der Einfachheit für sich hätte, nicht abgeurtheilt werden, bevor das Verhalten der pathogenen Keime, das hier allein Wichtigkeit hat, insoferne nicht bloss dem Wasser ein besseres Aussehen verliehen werden soll, festgestellt worden war.

Tabelle II.

Gemisch von gleichen Theilen Leitungs- und Donaukanalwasser.

	0,15 g Alaun pro Liter				0,30 g Alaun pro Liter	
	8-13° C.	8-13° C.	9-11° C.	9-11° C.	7,5-11° C	7,5-11° C
	Colonien aus je 1 ccm Wasser					
Vor Zusatz des Alauns	1957	1493	1210	1747	3886	3365
Nach 18 Stunden	39	35	101	119	—	—
» 24 »	31	15	82	368	72	1171
» 48 »	647	24	240	4491	483	3114
» 72 »	4923	245	257	6509	695	4304

Die einschlägigen Versuche stellte ich hauptsächlich der leichten Desinfection halber, wieder in Erlenmeyer-Kolben mit Proben von je 1 l Wasser an. Die mit Baumwollpfropfen verschlossenen Kolben wurden vor der Füllung sterilisirt und während der Versuchszeit ununterbrochen durch Leitungswasser gekühlt. Die Probenentnahme geschah durch sterilisirte Pipetten mit grösster Vorsicht. Die Aussaaten erfolgten in Gelatine und in peptonisirte Bouillon.

3 Versuche waren dazu bestimmt, über die Wirkung aufzuklären, welche der Kalialaun selbst in solcher Verdünnung auf die Cholera- und Typhusbacterien äussert. Es wurde daher zu destillirtem sterilisirtem Wasser, das mit einigen Cubikcentimetern wässriger Aufschwemmungen von Agarculturen der genannten Arten versetzt worden war, Alaun in der Menge von 0,3 g pro Liter hinzugefügt. Es ergab sich dabei Folgendes:

Tabelle III.

	Cholera-vibrionen		Typhus-bacterien
	8—11° C.		6—10° C.
	Colonien aus je 1 ccm Wasser		
Vor Zusatz des Alauns	782	591	4514
Unmittelbar nach Zusatz	209	11	4571
nach 18 Stunden	—	—	5087
» 24 »	—	—	4578
» 48 »	—	—	2274
» 72 »	—	—	—

Die so überaus empfindlichen Cholerabacterien werden in Wasser also auch durch Alaun in so hochgradiger Verdünnung noch in kurzer Zeit getödtet, während die Typhusbacterien kaum nennenswerth geschädigt werden. Die Abnahme der Keimzahl nach 48 Stunden sieht man auch bei Untersuchung der Typhusbacterien-Aufschwemmungen in Wasser für sich. Es fragte sich nun aber weiter, was aus den pathogenen Bacterien in den gewöhnlichen Wässern wird, in welchen ja der Alaun sofort zersetzt wird. Das Ergebnis der darauf bezüglichen Versuche folgt hier zusammengestellt.

Tabelle IV.

	Cholerabacterien		Typhus-bacterien
	8—11° C.		8—9° C.
	Leitungswasser	Wasser mit 18 Härtegraden	Leitungswasser
	Colonien pro je 1 ccm		
Vor Zusatz des Alauns	1182	39840	4463
Unmittelbar nach dem Zusatze	1106	16136	2518
nach 24 Stunden	220	—	124
» 48 »	—	—	76
» 72 »	—	—	54
Im Schlamme nach 72 Stunden	2707 Colonien, aber keine Cholera-vibrionen darunter	Tausende von lebenden Keimen aber keine Cholera-vibrionen darunter	42 000 Colonien, darunter reichlichst solche von Typhus-bacterien

Bemerkenswerther Weise verschwand also auch unter diesen Umständen der Choleravibrio binnen sehr kurzer Zeit vollständig aus dem Wasser, obwohl schon hier hervorgehoben werden muss, dass bei dem einen der beiden Versuche nach 24 Stunden noch eine nicht unbeträchtliche Zahl von Vibrionen im geklärten Wasser nachzuweisen war. Dass es sich nicht bloss um Ausfällung der Vibrionen handelte, lehrte die Untersuchung des Sedimentes. Nach drei Tagen wenigstens waren auch hier keine lebenden Cholerakeime mehr nachzuweisen. Die Typhuskeime waren zu keiner Zeit vollständig aus dem Wasser entfernt, was wohl mit ihrer Eigenbewegung zusammenhängt. Ihre Zahl wurde während des Stehens der geklärten Probe langsam kleiner; indess konnten im Sedimente nach drei Tagen trotz der starken Saprophyten-Wucherung noch ihrer Tausende nachgewiesen werden. Der Werth des Babes'schen Verfahrens, insoferne es sich um die Beseitigung der Gefahr der Typhus-Infection durch Wasser handelt, war hiermit schon gekennzeichnet. Es erübrigte aber noch die Feststellung, mit welcher Schnelligkeit das Absterben der Choleravibrionen vor sich geht. Zunächst handelte es sich ja auch hier sicherlich nur um Fällung. Binnen welcher Zeit ist aber auf den Tod dieser Keime zu rechnen? Die Fällung allein kann in der Praxis nicht als genügend angesehen werden, wenn man bedenkt, wie leicht beim Ablassen des geklärten Wassers etwas von dem leichten Niederschlage aufgewirbelt werden kann; wenn man die oben mitgetheilten Beobachtungen berücksichtigt, dass Niederschlagsflocken an den Wänden hängen bleiben und durch Gase wieder gehoben werden.

1. 1 l Hochquellwasser wurde nach Zusatz von 2 ccm Choleravibrio-Aufschwemmung mit 0,3 g Alaun versetzt; das Gemisch unter Kühlung aufbewahrt. Nach 5 Stunden, nach 9 Stunden und nach 24 Stunden wurde gut durchgeschüttelt und in Bouillon ausgesäet. Ueberall trat Vibrionen-Vegetation auf. Es waren also im Sedimente auch nach 24 Stunden noch lebende Cholera-Keime vorhanden.

2. Ein Gemisch von gleichen Raumtheilen Hochquellwasser und gesättigter Magnesiumbicarbonatlösung wurde mit einer

kleinen Menge Aufschwemmung von Choleravibrionen versetzt (2 ccm auf den Liter). 1 l der Flüssigkeit blieb ohne Zusatz; ein zweiter wurde mit 0,3 g Alaun versetzt. Beide Proben wurden gekühlt. Nach 24 Stunden wurden beide Proben durchgeschüttelt, dann wie früher Aussaaten gemacht. Ebendasselbe geschah nach zwei und drei Tagen. Nach 24 Stunden lebten die Choleravibrionen noch in beiden Proben. Nach 48 Stunden waren sie in dem Alaunkolben abgestorben; lebten aber noch in der Controlprobe. Nach drei Tagen waren sie in beiden Proben todt.

3. 1 l mit Magnesiumbicarbonat gesättigten Wassers erhielt nach Zusatz von Choleravibrionen 0,3 g Alaun; ein zweiter 0,15 g Alaun; ein dritter blieb ohne Alaunzusatz. Im Uebrigen waren die Versuchsbedingungen die gleichen. Nach 24 Stunden lebten die Vibrionen noch in allen drei Proben, dagegen waren sie in allen Dreien nach zwei Tagen todt.

Die drei Versuche lehrten somit übereinstimmend, dass die Choleravibrionen auch nach Zusatz von 0,3 g Alaun zum Liter Wasser binnen 24 Stunden noch nicht völlig abgetödtet sind; dass daher nach dem Alaunzusatze mindestens zwei Tage lang zugewartet werden müsste, bevor man choleraverdächtiges Wasser ohne Bedenken trinken könnte. Praktisch ist also das neue Reinigungsverfahren auch in diesem Falle nicht.

Wie kommt es aber, dass der Alaunzusatz trotz der Zersetzung des Alauns die Vibrionen überhaupt, wenn auch langsam tödtet? Den Fingerzeig für die Erklärung gaben die Controlproben, in welchen ebenfalls in auffallend kurzer Zeit der Tod der Vibrionen erfolgte. Hier war offenbar die freie und halbgebundene Kohlensäure das Wirksame. Wir machten noch einen besonderen Versuch, um dies zu sichern. Wir nahmen eine Portion Brunnenwasser, theilten sie in zwei Theile, sättigten den einen mit Kohlensäure, inficirten dann beide Theile mit Choleravibrionen und hielten sie unter denselben Bedingungen wie bei den frühen Versuchen. Während aus dem unveränderten Brunnenwasser auch nach drei Tagen die Vibrionen noch reichlich wuchsen, erhielt man aus dem, mit Kohlensäure gesättigten nur nach 24 Stunden noch Vibrionen-Vegetation, nach zwei und drei

Tagen aber nicht mehr. Es handelt sich übrigens dabei um eine bekannte Thatsache. Hochstetter[1]) hatte ja sogar bereits nach 24 Stunden in mit Kohlensäure gesättigtem Wasser keine lebenden Choleravibrionen mehr gefunden.

Auf Kohlensäurewirkung ist aber wohl auch der Erfolg des Alaunzusatzes zurückzuführen. Bei der Zersetzung des Alauns durch die Bicarbonate der alkalischen Proben und Alkalien wird freie Kohlensäure gebildet.

$$Al_2(SO_4)_3 + 3\,Ca(HCO_3)_2 = Al_2(OH)_6 + 3\,CaSO_4 + 6\,CO_2$$

0,3 g Kalialaun liefern bei dieser Reaction 83 mg Kohlendioxyd. Die Wirkung der Kohlensäure dürfte noch dadurch verstärkt werden, dass die Vibrionen grösstentheils durch den Thonerde-Niederschlag zu Boden gerissen und so in ihrer Sauerstoffathmung behindert werden.

Aus vorstehenden Mittheilungen ergibt sich:

1. Das Babes'sche Verfahren ist in Beziehung auf die chemische Veränderung des Wassers sanitär unbedenklich.

2. Es liefert aber nur ausnahmsweise keimfreies Wasser.

3. Die Verminderung der Keimzahl hält nur kurze Zeit an. Bald erfolgt wieder Vermehrung der Saprophyten.

4. Die Typhusbacterien werden durch das Verfahren nicht geschädigt und nicht mit Sicherheit vollzählig aus dem Wasser entfernt.

5. Die Choleravibrionen werden bei Anwendung des Verfahrens nicht allein aus dem Wasser ausgefällt, sondern auch getödtet. Doch erfolgt dies sehr langsam und ist die Fällung und Abtödtung nach 24 Stunden noch nicht mit Sicherheit vollendet.

---

1) Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamte, Bd. II.

Hygienische Studien über Mehl und Brot, mit besonderer Berücksichtigung der gegenwärtig in Deutschland üblichen Brotkost.[1]

Von

Prof. Dr. K. B. Lehmann.

(Theil I: Zermahlungsgrad, und Theil II: Unkrautgehalt.)

(Aus dem hygienischen Institute in Würzburg.)

Einleitung.

Die nationalökonomische Bedeutung des Brotes hat sehr zahlreiche Untersuchungen dieses wichtigsten Volksnahrungsmittels veranlasst. v. Bibra[2]) hat 1860 in einer sehr fleissigen Studie alles zusammengestellt, was in historischer, botanischer und experimentell-chemischer Richtung damals über Getreide, Mehl und Brot bekannt war. In dem besonders ausgedehnten chemischen Theil berichtet er eingehend über die grundlegenden Arbeiten von: Berzelius, Boussingault, Cahours, Dumas, Faisst, Fehling, Fresenius, Graeger, Horsford, Jones, Keller, Krocker, Liebig, Magendie, W. Mayer, Millon, Mitscherlich, Mège-Mourriès, Mulder, Oppel, Oudemans, Payen, Péligot, Poggiale, Reiset, Rivet, Scherer, Taddei, Vauquelin, Vogel, Way u. Ogston, Will und einer Reihe anderer Forscher und fügt dieser kritischen Zusammenstellung zahlreiche eigene Analysen von Getreide, Mehl und Brot. sowie sorgfältige Studien über verschiedene Specialfragen bei.

1) Unter diesem Titel beabsichtige ich in rascher Folge eine Reihe von Arbeiten zu publiciren, die in den letzten Jahren theils von mir, theils von meinen Schülern angestellt sind und noch fortgesetzt werden.

2) Die Getreidearten und das Brot, Nürnberg 1860.

War durch diese Arbeiten die chemische Untersuchung des Brotes für einmal so ziemlich abgeschlossen, so war auf dem Gebiete der Ernährungslehre noch sehr viel zu thun, da fast nur die Frage der Ausnützung der Kleie durch Payen und Poggiale in Angriff genommen war. Die schönen Arbeiten der Voit'schen Schule von Bischoff (Z. f. Biol. V.), Gustav Meyer (Z. f. Biol. VII.), Rubner (Z. f. Biol. XV. und XIX.) erledigten durch Versuche an Hund und Mensch die Frage nach der Ausnützbarkeit der verschiedenen deutschen Brotsorten. Der Einfluss der Kleiebeimischung auf dieselbe und der Nährwerth der Kleie wurden erforscht. Die Frage nach der Bedeutung des Zermahlungsgrades und des Säuregehalts wurde in Angriff genommen, und noch neuestens haben die Arbeiten von Rubner und Wicke (A. f. H. XII. und XIII.) die praktische Bedeutung dieser Untersuchungen dargethan.

Neben diesen physiologisch-hygienischen Studien besitzen wir allmählich eine stattliche Reihe toxikologisch-hygienischer, die sich mit der Schädlichkeit von Metallsalz- und Unkrautbeimischungen beschäftigen oder die hygienische Bedeutung von zersetztem Mehl zum Gegenstand haben; dieselben widmen sich aber meist irgend einer Specialfrage.

Dagegen sind meines Wissens methodische Untersuchungen über die Beschaffenheit des deutschen Mehles und Brotes mit geringen Ausnahmen fast nur nach der Richtung der Ausnützbarkeit, des Wasser-, Asche- und Stickstoffgehaltes angestellt. Ich hoffe, dass vorliegende Arbeiten einige Lücken unserer Kenntnisse ausfüllen werden und dazu beitragen, der hochwichtigen Brotfrage neues Interesse zuzuführen.

Die Veranlassung zu meinen Untersuchungen[1]) bot mir die Ausstellung von Broten durch Herrn Mühlenbesitzer und Ingenieur Uhlhorn aus Grevenbroich bei Gelegenheit des internationalen

1) Ueber den Säuregehalt von Brot hatte ich schon ein Jahr vorher für meine »Methoden der praktischen Hygiene, Wiesbaden 1890« eine Reihe von Untersuchungen angestellt, die in diesem Buche kurz vorläufig mitgetheilt sind; auch hatte ich seit Langem grosses Interesse an der Frage des Unkrautgehalts des Brotes (siehe K. B. Lehmann, A. f. H., IV, S. 149; A. f. H., VI, S. 124 und A. f. H., IX, S. 257).

medicinischen Congresses in Berlin 1890. Auf meinen Wunsch sandte mir Herr Uhlhorn im Herbst 1890 ausser Proben seiner decorticirten Reformmehle und Reformbrote zum Vergleich eine Probe niederrheinisches Landbrot. Das letztere erregte durch die ungenügende Zermahlung des verwendeten Getreides, durch seinen auffallenden Unkrautgehalt und seinen intensiv sauren Geschmack dermaassen mein Erstaunen, dass ich um weitere Zusendung solcher Landbrote bat. Ich erhielt sechs Brotproben (alle auf Wunsch mit bürgermeisterlicher Beglaubigung über ihren Ursprung) und konnte mich nun überzeugen, dass jenes erste Brot nur als Repräsentant eines Brottypus zu betrachten sei, dessen Vorkommen ich im hochcultivirten Deutschland nicht für möglich gehalten hätte. Durch die freundliche Vermittelung des Herrn Uhlhorn — dem ich für seine Unterstützung zu herzlichem Danke verpflichtet bin — erhielt ich später auch Mehle aus der gleichen Gegend (November 1890) und im Herbste 1891 nochmals eine Sendung Brote aus rheinischen Dörfern, die bewiesen, dass im Jahre 1891 noch ungleich viel schlechteres Brot genossen wurde als im Vorjahre. Es wurden hier Resultate gewonnen, deren Mittheilung [1]) vielfach direct auf Zweifel an der Richtigkeit der verwendeten Methoden stiess; ja ich musste sogar die Frage hören, ob denn die von mir untersuchten Brote zum Essen und nicht vielleicht nur als Viehfutter oder gar nur zum Zwecke der Analyse gebacken worden seien. Leider ist es ausgeschlossen, dass diesen Zweifeln irgend welche Berechtigung zukommt.

Die Studien über die deutschen Brote konnte ich durch freundliche Mithilfe meiner Freunde und Schüler im Laufe von zwei Jahren allmählich über einen grossen Theil von Deutschland ausdehnen, es sind jetzt etwa 170 Brote und gegen 70 Mehle durch meine Hände gegangen. Selbstverständlich wurden diese Proben nicht gleichmässig eingehend untersucht.

1) Oeffentlich habe ich im September 1891 auf der Naturforscherversammlung in Halle Einiges über den ersten Theil meiner Arbeiten vorgetragen, über den zweiten Theil habe ich im December 1891, über den dritten Theil am 15. Januar 1893 kurz in der medicinischphysikalischen Gesellschaft in Würzburg berichtet.

I. Der Zermahlungsgrad des Getreides.

Es fehlen meines Wissens in der hygienischen Literatur ausgedehntere Angaben über die Feinheit der Zermahlung des Getreides, wie sie in Deutschland üblich ist. Bei flüchtiger Betrachtung bemerkt man schon, dass alle Uebergänge vom feinsten Mehl bis zum kaum zerquetschten Korn Anwendung finden, und es erschien lohnend, die zugänglichen Mehlproben[1]) einmal methodisch mit dem Siebsatz zu untersuchen.

Leider zeigte sich bei der späteren Nachmessung der Maschen des aus einer guten Fabrik bezogenen Siebsatzes, dass die Weite der Oeffnungen nicht wie bestellt, entsprechend dem Knop'schen Siebsatz 4 mm, 2 mm, 1 mm, 0,3 mm war[2]), sondern es wurden wirklich verwendet: Siebe, die folgende Fractionen lieferten:

Durchmesser der Fragmente.	Name der Fraction.[3])
4—2 mm	A. (Grobschrot)
2—1,25 »	B. (Mittelschrot)
1,25—0,7 »	C. (Feinschrot)
0,7—0,5 »	D. (Grobmehl)
0,5—0,2 »	E. (Mittelmehl)
unter 0,2 »	F. (Feinmehl).

Ich glaube aber, dass auch diese etwas willkürlichen Siebweiten einen sehr guten Ueberblick über die Mehlfeinheit geben.

Die erhaltenen Resultate ordne ich in vier Tabellen. (Seite 75 76 und 77).

1) Eine Beurtheilung der Mehlfeinheit durch die Untersuchung des Brotes ist leidlich möglich bei Schrotbrot. Dünne Schnitte geben makroskopisch und unter der Lupe eine sehr gute Orientirung; bei schwacher Vergrösserung unter dem Mikroskop betrachtet, ist ein sehr guter Einblick möglich.

2) Die bisher vorläufig von mir mitgetheilten Resultate über Schrotmehlzusammensetzung sind infolge der nachträglich bemerkten Unrichtigkeit der Siebe nicht ganz correct gewesen.

3) Diese Namen sind ganz willkürlich von mir den von mir erhaltenen Fractionen beigelegt.

Tabelle I.

Grobe Mehle (Schrotmehle und verwandte Producte).[1])

A. Echte Schrotmehle (alle aus Roggen).

		4—2	2—1,25	1,25—0,7	0,7—0,5	0,5—0,2	<0,2	
Rheinprovinz-Landmehle	Grevenbroich I	10,8	32,8	25,6	2,5	10,9	17,4	1
	„ II	23,8	36,7	17,2	4,8	10,8	7,2	2
	„ III	17,6	30,1	24,5	5,4	13,0	9,4	3
	„ IV	23,0	35,2	19,6	4,2	10,7	7,3	4
	„ V	10,6	26,8	27,2	7,2	16,2	11,4	5
	„ VI	26,0	29,4	19,2	8,0	8,8	13,6	6
	Crefeld . . .	10,9	11,1	3,2	21,3	33,3	21,2	7
Mehl zu süssem Pumpernickel, Lippstadt Westfalen		4,8	18,2	36,2	6,6	13,8	20,4	8
Schrotmehl Sensburg, Ostpreussen .		2,1	6,4	24,4	9,9	23,2	34,0	9
Kneipp's Schrotmehl, Bayern . .		18,0	16,6	12,4	1,0	36,6	20,4	10
Rauber's Schrotmehl, München . .		19,8	18,0	20,4	4,4	16,2	21,2	11

B. Feinere Schrotmehle (mit Ausnahme von 14a und 16 aus Roggen).

	4—2	2—1,25	1,25—0,7	0,7—0,5	0,5—0,2	<0,2	
Uhlhorn's decorticirtes Schrotmehl .	0	7,8	17,2	8,0	23,8	43,2	12
„ do. andere Sendung	0	6,4	20,0	6,0	25,4	42,2	13
Steinmetz, decort. Roggenschrotmehl	0	0	16,4	11,0	31,6	41,0	14
„ „ Weizenschrotmehl	0	0	15,8	9,2	30,4	44,6	14a
Grobes Roggenmehl, Hamburg . .	0	6,0	18,4	3,0	23,8	48,4	15
„ Weizenmehl, „ . .	0	0	0	32,8	62,0	5,2	16

Tabelle II.

Mehle mittlerer Qualität aus Landmühlen.

Zur Volksernährung bestimmt.

		2—1,25	1,25—0,7	0,7—0,5	0,5—0,2	<0,2	
Roggenmehl aus der Gegend von Paderborn (Westfalen)		—	—	—	9,4	90,6	17
Unterfranken	Versbach, Roggen . .	—	—	—	0,52	99,48	18
	Schaippach, Roggen .	—	—	—	12,1	87,9	19

1) Zum Vergleich theile ich eine Analyse des Mahlproductes mit, das in Bräunlingen (badischer Schwarzwald) aus Roggenabfall für die Schweine gemahlen wird, und eine Siebanalyse einer unterfränkischen Kleie.

	4—2	2—1,25	1,25—0,7	0,7—0,5	0,5—0,2	<0,2
Roggenabfallmehl für Schweinefutter . . .	3,0	0,75	1,0	1,25	34,75	59,25
Kleie aus einer fränkischen Landmühle				20	76	4

		2–1,25	1,25–0,7	0,7–0,5	0,5–0,2	< 0,2	
Unterfranken	Zellingen, Weizen . .	—	—	—	0,9	99,1	20
	Retzbach, Weizen . .	—	—	—	1,0	99,0	21
	Linkfeld, Weizen . .	—	—	—	5,6	94,4	22
	Tückelhausen[1]), Weizen	—	—	—	1,8	98,2	23
Oberbayern Burghausen[2])	Weisses Brotmehl .	—	—	—	5,5	94,5	24
	Schwarzes Brotmehl	—	—	—	7,75	92,25	25
Baden, Gegend von Bräunlingen	Spelt. Müller H.	—	—	—	8,0	92,0	26
	Weizen	—	—	—	37,25	62,75	27
	Weizen . . .	—	—	—	13,0	87,0	28
	Weizen und Spelt	—	—	—	8,25	91,75	29
	Mischelfrucht I[3])	—	—	0.5	29,0	70,5	30
	Mischelfrucht II	0,2	0,4	0,3	19,4	79,7	31
Gegend von Lenzkirch, Baden	Pf. . .	—	—	—	—	100	32
	W. . .	—	—	—	—	100	33
	St. . .	—	—	—	1,4	98,2	34

Tabelle III.

Mehle aus Kunstmühlen.

		0,5 - 0,2	< 0,2	
Stettin	Roggenmehl Nr. 2	20,1	79,9	35
	„ Nr. 0/1	11,9	88,1	36
	„ Hälfte Nr. 0/1 Hälfte No. 2	13,45	86,55	37
	Roggengangmehl Nr. 1	1,6	98,4	38
	Weizengangmehl Nr. 1	3,85	96,15	39
	Gemisch von 12 Centner Roggen Nr. 0/1 mit 2 Centner Weizen 00	3,5	96,5	40
Krimitschan (Sachsen)	Ungarischer Kaiserauszug (Weizen)	2,5	97,5	41
	Weizenmehl zu Zwieback	3,4	96,6	42
Würzburg	Roggenmehl f. gewöhnl. Brot, Bäcker N.	4,0	96	43
	Weizenmehl f. gewöhnl. Brot, Bäcker N.	0	100	44
	Roggenmehl, Bäcker S.	12,75	87,25	45
	Weizenmehl, Bäcker S.	0	100	46
	Roggenmehl, Bäcker D.	9,25	91,25	47
	Weizenmehl, Bäcker D.	0	100	48

1) Zum Vergleich wurde die Kleie der gleichen Mühle untersucht:

0,7–0,5	0,5–0,2	< 0,2
20 %	76 %	4,0

2) Von diesen Mehlen ist nicht ganz sicher, ob sie nicht vielleicht doch einer Kunstmühle entstammen.

3) Mischelfrucht ist ein in süddeutschen Gebirgsgegenden hin und wieder zusammen auf dem gleichen Acker gebautes Gemisch von: Gerste, Erbsen, Linsen, Wicken, Hafer. Eine Probe enthielt z. B. 69,8 % Gerste, 20,6 % Erbsen, 6,4 % Linsen, 3,2 % Wicken, 1,2 % Hafer.

	0,5—0,2	< 0,2	
Schweinfurt, Weizenmehl	0,94	99,06	49
München[1]) Weizenmehl Nr. 2	0	100	50
„ Nr. 3	0	100	51
„ Nr. 4	0	100	52
„ Nr. 4½	4,8	95,2	53
Roggenmehl Nr. 0 (cca. 45 % Körnerauszug)	0,6	99,4	54
Roggenmehl Nr. I (hiervon werden etwa 15 % nach den ersten 45 % Auszug gewonnen)	0,8	99,2	55
Bräunlingen (Baden) Mischung von Weizen und Spelt zu mittleren Brotqualitäten	0	100	56
Bonndorf (Baden), Weizenmehl	0	100	57
England Weizen »Household meal«	11,6	88,4	58
England Weizen »White's meal«	4,4	95,6	59

Tabelle IV. (Anhang).

Einige Analysen von Mais-, Gersten-, Hafermehl aus Kunstmühlen.

	0,5—0,2	< 0,2	
Maismehl, Aalen (Baden)	26,25	73,75	60
Gerstenmehl, Krimmitschau	0,54	99,46	61
Hafermehl, Gerabronn (Württemberg)	49	51	62

Was können wir nun aus diesen Zahlen schliessen, genügt die Zermahlung, wie wir sie gefunden, oder ist hier eine Aenderung nöthig?

Aus den bisher publicirten Ausnützungsversuchen am Menschen ist unzweifehaft zu schliessen, dass eine feine Zerkleinerung der Nahrung (speciell des Getreides) sie vollständiger ausnützbar macht. Der als Anhang S. 114 mitgetheilten Tabelle über die bisherigen Resultate entnehme ich:

Rubner stellte Brot

aus a) Englischem feinstem Weizenmehl,

b) englischem mittelfeinem Weizenmehl,

1) Mehle, wie sie in Rauber's Brotfabrik in München Verwendung finden.

c) englischem decorticirtem, ziemlich grobem Weizenmehl, mit Hilfe von Hefe her und beobachtete im Ausnützungsversuch einen Verlust an:

	ohne Berücksichtigung des Hungerkothes		unter Abzug des Hungerkothes	
	Trockensubstanz	Stickstoff	Trockensubstanz	Stickstoff
bei a	4,0	20,7	1,9	18,0
„ b	6,7	24,6	4,4	19,0
„ c	12,2	30,5	10,0	24,9

Der bedeutende Unterschied ist — da eine Differenz im Säuregehalt nicht anzunehmen ist — nur durch zwei Factoren erklärbar, einmal durch die gröberen Fragmente und zweitens durch den höheren Cellulosegehalt der Proben C und B gegenüber A, leider fehlt es an Mitteln, die Wirkung dieser beiden Factoren sicher zu trennen.

Man könnte versuchen, durch Betrachtung der drei letzten Versuche der Tabelle, die sich alle auf Roggenschrotbrot beziehen, diese Lücke auszufüllen; leider ist aber auch hier nicht zu sagen, ob die günstigere Ausnützung von Uhlhorn's decorticirtem Roggen gegenüber den beiden Proben landesüblicher Oldenburger und Niederrheinischer Schrotbrote vorzugsweise auf die Decortication oder die bessere Zerkleinerung zurückzuführen ist. Letztere war sehr verschieden, denn:

	mm 4—2	mm 2—1,25	mm 1,25—0,7	mm 0,7—0,5	mm 0,5—0,2	mm 2
Es besteht nach Tabelle I Uhlhorn's Reformschrotmehl aus .	0	7,1	18,6	7,0	24,6	42,7
während im Durchschnitt niederrheinische Schrotmehle[1]) (Durchschnitt aus 6 Proben) bestehen aus	18,7	31,9	22,3	4,4	11,7	11,0

Neue Versuche von Goodfellow — allerdings mir nur in einer halbpopulären Darstellung zugänglich[2]) — ergaben aber Resultate, die hier sehr wohl verwerthbar sind. Er fand bei grobem

1) Wicke's und G. Meyer's niederdeutsche Landbrote bestanden womöglich noch aus schlechterem Material als dieser Durchschnitt. Meyer spricht von unzerkleinerten Körnern, und Wicke macht die Angabe, dass nur 27 % seines Mehles durch ein Sieb mit 1 mm Maschenweite passirten, — im Durchschnitt meiner Analysen gingen immerhin etwa 37 % durch das 1 mm-Sieb.

2) Goodfellow: The dietetic value of bread, London, Macmillan and Co., 1892.

englischem Whole meal[1]) einen Ausnützungsverlust von 12½% der Trockensubstanz, bei fein zermahlenem Mehl aus ganzem Korn ohne jede Kleieabscheidung nur 8% Verlust. Der Hungerkoth scheint nicht in Rechnung gezogen.

Dadurch ist unzweifelhaft der Einfluss der Zermahlung dargethan. Aber selbst ohne Kenntnis dieser Versuche wird jeder Laie beim Anblick des in Fractionen geschiedenen Roggenschrots entschiedene Zweifel in sich aufsteigen fühlen, ob dies eine rationelle Ernährung für Menschen im Zeitalter der Maschinen darstellt. Die beim Sieben des zarten, verhüllenden Mehlstaubes entkleideten Fractionen zeigen ihre primitive Zerkleinerung und ihre dicke Cellulosehülle nun ganz auffällig, und die feinen Fractionen sind kaum dem schlechtesten süddeutschen ·Futtermehl zu vergleichen, gelbgrau, unansehnlich, griesig. Als ein besonders auffälliges Zeichen unglaublicher Gleichgiltigkeit in der Herstellung des Schrotmehls erwähne ich, dass sich ganze, unzermahlene Körner gar nicht selten in grösserer Anzahl finden.[2])

1) Ich konnte durch Goodfellow's Freundlichkeit ordinäres englisches Whole meal untersuchen; im Momente der Absendung des Manuskriptes erhalte ich auch das von Goodfellow als eines der allerbesten englischen Mehle aus ganzem Korn gerühmte »Triticumina«. — Die Siebanalyse ergab:

	gröber als 2 mm	2—1,25	1,25—0,7	0,7—0,5	0,5—0,2	feiner als 0,2
Ordinäres englisches Whole meal . . .	4,4	6,2	16,0	11,2	23,6	38,6
Triticumina	1,15	3,5	7,1	2,25	42,0	44,0

Beide Mehle sind wesentlich feiner als die deutschen ländlichen Schrotmehle.

Entfernt man aus dem gewöhnlichen Whole meal die 4,4% gröbsten Bestandtheile, so erhalten wir ein dem Uhlhorn'schen Schrotmehl sehr ähnliches Product, mit dessen Ausnützung auch die des englischen Brotes gut stimmt.

Das Triticuminamehl enthält sogar 86% Fragmente feiner als 0,5 mm, sehr komisch sehen in diesem fein zermahlenen Product die 4,65% groben Kleienfetzen aus. Dieselben sind fast vollkommen von anhaftendem Mehlkern befreite, papierdünne braune Häute, die auf das leichteste abzutrennen wären, sicher den Nährwerth nicht erhöhen und wahrscheinlich mit daran Schuld sind, dass bei Genuss dieses Brotes immer noch 8% Verlust erhalten wird.

2) G. Meyer erwähnt Aehnliches beiläufig von seinem Oldenburger Schwarzbrot (Z. f. Biol., VII). Auch ich habe im Brote nicht selten unverletzte Körner getroffen, ein Beweis, das die untersuchten Mehle wirklich zum menschlichen Genusse bestimmt waren.

In einer Probe von 100 g suchte ich beispielsweise aus den 23,9 g der gröbsten Fraction 42 ganz unverletzte oder höchstens etwas gequetschte Körner aus im Gewicht von 0,46 g, d. h. 0,46 % des gesammten Roggens war gar nicht gemahlen und damit sicherlich annähernd vollständig der Ausnützung entzogen! Vermögen sogar die Pferde unzerkleinerte Körner nicht zu verdauen, so ist für den Menschen ihre Unverdaulichkeit ohne weiteres klar.

Welche Zerkleinerung ist aber nun von Seite des Hygienikers zu verlangen? A priori scheint klar, dass, je feiner die Zerkleinerung, um so sicherer die gute Ausnützung zu erwarten sei. Es muss aber eine Grenze geben, von der ab weiteres Zerkleinern unnütz ist, und es fragt sich nun, wo diese Grenze liegt.

Genügen Zermahlungsgrade, wie sie die zweite Reihe in Tabelle I bietet, die »feineren Schrotmehle« umfassend? Aus dem oben citirten Versuche Goodfellow's folgt die Antwort: nein; sein grobes Whole meal entsprach etwa den »feineren deutschen Schrotmehlen« und wurde doch sehr bedeutend von wirklich feinem Whole meal, Triticumina u. dergl. übertroffen.

Gehen wir nun zu den fein zermahlenen deutschen Mehlen. Rubner hat (Zeitschr. f. Biologie Bd. XIX) das Mehl der englischen Bread-Reform league aus dem ganzen Weizenkorn untersucht und gefunden, dass 77 % durch ein Sieb mit 0,22 mm Maschenweite gehen, und 23 % darauf zurückbleiben. Er tadelt dies als ungenügende Zermahlung und meint, es müsse an Stelle der allerdings sehr bescheidenen Forderung der League, dass alles Mehl durch ein Sieb mit 1/16 engl. Quadratzoll d. h. 1,6 mm Maschenweite durchgehe, die treten, dass alle Fragmente Maschen von 0,05 qmm d. h. 0,22 mm Seitenlänge zu passiren im Stande seien.

Die Mehle unserer Kunstmühlen entsprechen dieser Forderung Rubner's, wie wir sahen, ganz oder annähernd.[1]) Von

---

1) Durch das Studium von Müllereiwerken erfuhr ich, dass die Kunstmühlen sämmtlich für die feinere Bäckerei nur Mehle liefern, die Seidenbeuteltuche Nr. 10 oder Nr. 11 passirt haben, d. h. Mehle, deren Fragmente kleiner als 0,165 resp. 0,146 mm sind. Diese Seidenstoffe haben 60 resp. 70 Fäden auf einen Centimeter.

den 23 untersuchten Kunstmehlen gingen 8 Weizenmehle (alle 8 in Süddeutschland zur Bereitung von Volksnahrung verwendet) ganz durch das 0,2 Sieb, die übrigen[1]) Weizenmehle (5) und einige feinere Roggenmehle gaben weniger als 5% gröbere Bestandtheile als einer Maschenweite von 0,2 entspricht. Dagegen zeigten andere süddeutsche und eine Reihe norddeutscher Roggenmehle bis 10 und 12, einmal sogar 20% gröbere Bestandtheile, allerdings keine gröberen als von 0,5 mm Durchmesser.

Die Producte der Landmühlen (Flachmühlen), Tabelle III, sind meist etwas reicher an gröberen Bestandtheilen. Es ist wohl ein Mehl (Versbach) darunter, das nur ½% gröbere Bestandtheile als 0,2 mm enthält, die übrigen zeigen etwa zur einen Hälfte Gehalte von 5—10% und zur anderen Hälfte reichlichere Beimengungen. Letztere steigen in einigen Fällen auf 29, ja einmal auf 37,25%, doch sind gröbere Bestandtheile als 0,5 nur zweimal in der »Mischelfrucht« gefunden, die nur locale Bedeutung hat.

Ob ein solcher Gehalt von 5—20% etwas gröberer Bestandtheile (über 0,2 unter 0,5) die Ausnützung schon ungünstig beeinflusst, erscheint noch fraglich und nur durch neue Versuche zu entscheiden. Vorläufig bin ich[2]) geneigt, die Art und Menge der zum Brot verabreichten Zukost von grösserem Einfluss auf die Ausnützung zu halten, als derartige kleine Differenzen des Zermahlungsgrades.[3])

1) Ein englisches Household's Weizenmehl machte eine Ausnahme.

2) Zufällig stiess ich während der Correctur auf eine Arbeit von Stutzer (Landwirth. Versuchsstat. XL. 1892), in der er sagt, für die künstlichen Verdauungsversuche genügt zur Erhaltung bester Resultate eine Zerkleinerung bis zu dem Grade, dass alle Fragmente durch ein 0,5 mm Sieb durchgehen und mindestens ⅔ im Sieb von 0,17 mm passiren. Das wäre ziemlich genau der Zustand unserer gröberen Mehle.

3) Nach einem sehr kurzen Referat in der Münchner medicinischen Wochenschrift 1892 Nr. 4 hat Prausnitz am 13. Dec. 1892 in der Münchner Gesellschaft für Morphologie und Physiologie eine Reihe von einschlägigen Fragen an der Hand eigener Untersuchungen besprochen. Ob auch die Ausnützung bei verschiedenem Zermahlungsgrad methodisch verglichen ist, ist nicht ganz deutlich zu ersehen.

II. Der Gehalt der deutschen Brotfrucht und des Brotes an Schmutz und Unkraut.

Der gewaltige Gehalt mehrerer rheinischer Schrotbrote an Schmutz und Unkraut lockte zu methodischer Untersuchung.

Für den botanisch geschulten Beobachter hat die Bestimmung dieser Verunreinigungen im Getreide keine wesentlichen Schwierigkeiten, schwieriger wird die Arbeit, wenn Schrotmehl zu untersuchen ist. Im Schrotbrot macht die quantitative Bestimmung einzelner Unkräuter schon grosse Schwierigkeiten und erfordert weitere Umwege; im Feinmehl und Feinbrot ist mit botanischen Hilfsmitteln nur noch ein qualitatives Urtheil zu erlangen, nur ausnahmsweise gestatten chemische Methoden noch eine quantitative Bestimmung.

Bei dieser Sachlage ist es natürlich, dass von mir vorwiegend Getreide, Schrotmehl und Schrotbrot untersucht wurden, und zwar mehr Schrotbrot als Schrotmehl, weil ersteres leichter zu bekommen war. Mir scheinen auch die durch Brotuntersuchung gewonnenen Resultate die wichtigsten, weil wir hier sicher sind, eine nicht mehr weiter zu reinigende fertige menschliche Speise vor uns zu haben.

1. Methoden der Untersuchung.

a. Getreide.

Bei der Untersuchung des unzermahlenen Getreides war es mir besonders wichtig, möglichst einwandfreies Material zu bekommen. Dass kein Getreide ohne Unkraut gewonnen werden kann, steht fest; dass das Getreide in der Regel vor der weiteren Verarbeitung gereinigt wird, ist auch sicher; es galt nun möglichst sicher von jeder erhaltenen Probe zu bestimmen, ob sie nur so geerntet war oder ob sie wirklich so zermahlen werden sollte. Ich unterscheide im Folgenden streng zwischen gereinigtem (zuweilen allerdings schlecht gereinigtem) und ungereinigtem Getreide. Das letztere interessirt uns scheinbar nicht so sehr, wie das direct zum menschlichen Genuss bestimmte, und doch werde ich zeigen, dass auch die hierauf bezüglichen Resultate sehr brauchbar und interessant sind.

Die Untersuchung selbst war sehr einfach: Aus 100 g Getreide wurde erst alles ausgesucht, was nicht Roggen resp. Weizen war, und hierauf die einzelnen verunreinigenden Samenarten vereinigt, und die einzelnen Fractionen gewogen. Bei seltneren Samen begnügte ich mich, dieselben zu zählen und mit dem ein für allemal ermittelten durchschnittlichen Samengewicht zu multipliciren. Diese letztere Methode ist natürlich etwas ungenauer, da sie die wechselnde Grösse der einzelnen Samen nicht berücksichtigt, aber für unsere Zwecke vollkommen ausreichend. Neben den fremden Samen [1]) und dem Schmutze (Erdbröckelchen, Mäusekoth, Käfer etc.) wurden auch kranke Getreidekörner (Mutterkorn, radiger Weizen, brandige Körner), Getreidespelzen und Stroh ausgesondert und einzeln bestimmt.

b. Schrotmehl.

War bei der Untersuchung des unzermahlenen Getreides eine vollständige Berücksichtigung aller Unkräuter [1]) möglich, so war schon beim Schrotmehl die Beschränkung auf eine Anzahl besonders charakteristischer Arten geboten, was sich denselben nicht sicher einreihen liess, wurde als Varia bezeichnet. Ich habe vom Schrotmehl immer nur die beiden gröbsten Sieb-Fractionen (4 bis 2 mm und 2 bis 1,25 mm) ausgesucht, die zusammen meist ca. 50 % des Gesammtmehls ausmachten. Die Umrechnung der Unkräuter auf Gesammtmehl erfolgte unter der Annahme, dass die groben und feinen Mehlfractionen den gleichen Unkrautgehalt hätten. Es kann dadurch kaum ein gröberer Fehler bedingt sein. Bleiben auch die schwer zu zerkleinernden Leguminosensamen vorwiegend in den groben Fractionen, so geht dafür der weisse, leicht zerbröckelnde Inhalt der Radensamen gewiss vorwiegend in die feinen über, und zahlreiche feinere und feinste Samen finden sich daselbst so wie so.

---

1) Bei gelegentlichen Schwierigkeiten der Bestimmung der Samen hatte ich mich der freundlichen Mithilfe meines Freundes Dr. Carl Schröter, Professors der Botanik am Polytechnikum in Zürich, zu erfreuen, wofür ich auch hier besten Dank sage.

Die ausgesuchten Kategorien waren:

1. Ganz unzerkleinerte oder nur einmal schwach gequetschte Getreidekörner.[1])

2. Stroh, Spelzen von Getreide und verunreinigenden Gräsern, Stengel und Blattfragmente von Unkräutern. Nicht aufgenommen sind natürlich in diese Kategorie die wirklichen Kleiebestandtheile: Frucht und Samenschale der Getreidekörner.

3. Wicken, namentlich Samen verschiedener Vicia und Ervum, gelegentlich auch Lathyrusarten, deren Trennung nicht versucht wurde. Bestimmt wurde von Herrn Prof. Schröter Vicia sativa, Ervum hirsutum und Ervum tetraspernum.

4. Wickenhülsenfragmente.

5. Kornblumen (Centaurea Cyanus).

6. Kornraden (Agrostemma Githago).

7. Mutterkorn (Secale cornutum).

8. Taumellolch (Lolium temulentum).

9. Vereinzelte andere Samen = Varia.

10. Erdbröckelchen und Mäusekoth.

Zur Erkennung der Fragmente diente in erster Linie Vergleichsmaterial von Unkräutern[2]), das ich mir selbst auf den Feldern gesammelt. Ich will hier einige Bemerkungen über einzelne Punkte der Unkrautbestimmung machen:

ad 3. »Wicken« gehören zu den am leichtesten zu bemerkenden Samen im Schrotmehl. Namentlich die Samen mit schön gelb gefärbtem Endosperm sind noch in den feinsten Fragmenten auffällig. Auch die Farbe der Samenschale besonders bei den gesprenkelten Arten muss sofort auffallen.

Etwas schwerer sind die bräunlichen, ziemlich dünnen Samenschalen von Vicia sativa zu erkennen, da sie mit Kleiebestandtheilen mehrfache Aehnlichkeit haben; hier hilft aber ein Blick

1) Namentlich Sinapis und andere kleine Cruciferensamen, einmal Passerina annua, Myagrum perfoliatum, Atriplex hastata u. s. f.

2) Abbildungen von hierher gehörigen Samen und Früchten finden sich in Dammer's Illustrirtem Lexikon der Verfälschungen (Leipzig 1887) unter Artikel: Getreide, Grassamen, Samen; einige auch bei Harz: Landwirthschaftliche Samenkunde. Viel mikroskopisches Detail bei König: Untersuchung landwirthschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe, 1891.

in's Mikroskop: die Flächen-, besonders aber die Seitenansicht der Pallisadenzellen ist ausserordentlich charakteristisch. (Vergl. Möller Fig. 160. 164 u. 135.) Es sind mir sicherlich öfters solche Schalen von Vicia sativa entgangen, da eine mikroskopische Untersuchung nicht immer durchführbar war.

ad 4. Die leckig aufgerollten, mehr weniger zertrümmerten Wickenhülsen sind auch noch in kleinen Stücken makroskopisch ohne weiteres zu erkennen.

ad 5. Die Kornblumenfrüchte (Abbildung bei Dammer, Lexikon der Verfälschungen, Artikel: Getreide p. 319) bestehen aus einem harten, unten gelblichen, oben bläulichgrauen, elliptisch keilförmigen Fruchtkörper, der von äusserst charakteristischen bräunlichrothen steifen Haaren (Pappus) bekrönt ist. Sowohl die Fruchtschale als der Pappus sind bei einiger Uebung noch in sehr kleinen Fragmenten zu erkennen; sie können mit nichts verwechselt werden, was sich sonst in Getreide findet. In groben Mehlen findet man vielfach die Früchte ganz oder fast ganz unzerkleinert.

ad 6. Kornrade. Sehr bekannt und schon oft gut beschrieben und abgebildet (z. B. bei Möller p. 162, Dammer p. 319, Kruskall s. u.) sind die grossen, rundlich stumpfeckigen, undeutlich nierenförmigen, mit feinen spitzen Höckern besetzten schwarzrothbraunen, selten gelbbraun (namentlich im unreifen Zustand) gefärbten Kornradesamen. Es wurde — trotz des charakteristischen Baues der Stärkekörner — nur die Schale mit anhängenden Endospermresten ausgesucht, und etwaige schalenfreie Fragmente nicht weiter berücksichtigt, da ein vollständiges Isoliren derselben unter den groben Kornfragmenten unmöglich schien Nur bei einzelnen durch ihre besonders blendend weisse Farbe hervorragenden Bröckchen wurde eine Ausnahme gemacht. Die Schale ist in den kleinsten Stückchen noch durch einen Blick in's Mikroskop zu erkennen und von allen andern bräunlichschwarzen Samen leicht zu unterscheiden.

ad 7. Mutterkorn. Die dunkelviolettbraune Rinde, deren Farbe im feucht gewesenen Mutterkorn allmählich in das weisse innere übergeht, und die derbe hornige Consistenz der

Mutterkornfragmente ist auch bei sehr kleinen Stückchen zur Diagnose vollkommen ausreichend. Ich habe höchst selten ein Stückchen, das ich für Mutterkorn gehalten, bei der mikroskopischen Untersuchung als etwas anderes befunden möchte mir aber erlauben, Einiges über die ausserordentlich leichte — wie mir scheint, noch nicht genügend beschriebene — Erkennungsweise kleinster Mutterkornfragmente durch das Mikroskop anzuführen.

In den verschiedenen von mir durchgesehenen Büchern wird meines Erachtens viel zu viel Werth auf die mehr weniger kubischen Zellen der Randschicht gelegt. Noch viel charakteristischer finde ich das aus kurzen, in einander geflochtenen Hyphen bestehende Innere des Sclerotiums. Dünne Schnittchen, die auf das leichteste mit dem Rasirmesser aus dem schwach befeuchteten Korn anzufertigen sind, liefern, mit einem Tropfen Natronlauge befeuchtet und etwas gedrückt, sehr hübsche Bilder. Es tritt eine Reihe der verschiedensten knorrigen gekrümmten Zellformen auf, alle entweder ganz mit glänzendem Inhalt gefüllt (der Glanz ist dann meist etwas matter) oder circumscripte, stark glänzende Fettkügelchen einschliessend. Auch wenn die Mutterkornpartikelchen nach der Weender Cellulosebestimmungsmethode behandelt worden sind, sind die glänzenden Inhaltsmassen in vielen Zellen noch zu sehen. Nur bei sehr langer Behandlung der Schnitte mit starker Natronlauge verschwinden diese „Fetttropfen" allmählich.

c. Schrotbrot.

Herausklauben der gröberen Fragmente führt nur zu rohen, ungenauen Orientirungsresultaten, eine Trennung der Unkrautbestandtheile ist überhaupt nur in beschränktem Maasse möglich. Die einzig brauchbare Methode glaube ich in der Weender Cellulosebestimmung gefunden zu haben, die ich folgendermaassen ausführte:

Von dem bei 100° getrockneten Brote wurden 8 g abgewogen und fast ohne jede Zerkleinerung mit 200 ccm 1¼ procentiger Schwefelsäure ½ Stunde lang gekocht; dabei erweicht

und zerfällt das Brot schliesslich. Ziemlich leicht kann man aus der eine Weile ruhig gestandenen Schale die trübbraune Flüssigkeit vom Bodensatz abgiessen. Man wäscht zwei Mal mit Brunnenwasser nach und kocht hierauf 1/2 Stunde mit 1 1/4 % Natronlauge, lässt absitzen und wäscht 3 bis 5 Mal mit Wasser aus unter fortwährendem Decantiren. Die Methode arbeitet rasch, bequem und sicher, nur muss sorgfältig jedes Anbrennen vermieden werden, weil die dabei gebildeten braunen Krusten die Isolirung der Unkräuter sehr erschweren. Sehr mühsam erschien auch die Verarbeitung einzelner stark verschimmelter Brotproben. Schliesslich bleibt nur die gröbere Cellulose des Getreides, vermischt mit den widerstandsfähigeren Unkrautfragmenten, zurück; leicht isolirt man hieraus mit fast absoluter Genauigkeit: Radenschalen, Mutterkornfragmente, die schwarzen Schalen von Polygonum Convolvolus (Ackerknöterich) und Galiumfrüchte, ausserdem gewinnt man leicht grobe Wickenhülsen, Strohfragmente und Roggenspelzenstücke, sowie Spelzen von anderen Gräsern. Nur sehr unvollkommen gelingt die Sammlung der Wickenschalen, aus den oben angeführten Gründen. Zahlreiche andere Samen und Früchte kommen gelegentlich vereinzelt zur Ansicht, zu den bei der Mehluntersuchung genannten kamen namentlich die absichtlich zugesetzten Gewürze Anis, Fenchel, Kümmel, Dill, ab und zu Ackerwinde (Convolvolus arvensis), Scandix pecten veneris, Caucalis daucoides u. a.

Auf anorganischen Schmutz kann man durch Aschebestimmung prüfen, bei der Cellulosebestimmung erhält man am Grunde der Schale etwa vorhandenen Quarzsand aus den Mühlsteinen als knirschendes Pulver.

Die Isolirung der Unkrautfragmente, deren Identificirung nach den oben gegebenen Gesichtspunkten durchgeführt wurde, gestattet aber im Brot noch nicht ohne weiteres eine quantitative Bestimmung, da von manchen Samen nur die Schalen gewonnen werden und andere Samen bei den Manipulationen des Auskochens sehr verändert werden. Ich verfuhr deshalb folgendermaassen:

1. Kornrade. Es schien das einfachste, die isolirten Radenschalen zu trocknen und zu wiegen, zu bestimmen, wie viel Pro-

cent des Gewichts eines Radensamens auf das seiner Schale fällt, und so zu berechnen, wie viel Radensamen den gewogenen Schalen entsprechen. Leider zeigte sich aber bei einer Reihe von Versuchen, den Procentgehalt an Schalen in einem Gewicht Raden zu bestimmen, dass das Gewicht der erhaltenen Schalen in hohem Maasse abhängig ist von der Dauer der Behandlung mit Schwefelsäure und Natronlauge.

So ergab z. B.:

Versuch I.

3,0 g lufttrockene Raden werden 1/2 Stunde mit 1,25% Schwefelsäure gekocht, dann erst mit Wasser und hierauf 1/2 Stunde mit 1,25% Natronlauge und wieder mit Wasser ausgekocht. Die Schalen wiegen nach dem Trocknen 0,2439 g.

Die gleiche Procedur wird wiederholt: Rückstand = 0,1368 g.

Zum 3. Mal wird die gleiche Procedur vorgenommen: Rückstand = 0,117 g.

Versuch II.

3,0 g lufttrockene Raden liefern, behandelt wie oben, das

1. Mal = 0,2789 Rückstand
2. » = 0,1279 »
3. » = 0,112 »

Abgesehen davon, dass nach dieser Methode ein sehr lang wiederholtes und genau geregeltes Kochen nothwendig gewesen wäre, liefert dieselbe meist auch noch aus einem anderen Grunde wenig befriedigende Resultate. Das Gewicht der aus einer Brotportion isolirten Radenschalen war vielfach so gering, dass Wägefehler von 1/2 Milligramm das Resultat gleich bedeutend beeinflusst hätten.

Ich verfiel deshalb auf eine andere Methode. Die isolirten Radenfragmente kamen aus Wasser zur Aufhellung kurze Zeit in concentrirte Salzsäure, dann nacheinander in Alkohol und Xylol und wurden endlich, unter grossen Deckgläsern thunlichst ausgebreitet, in Canadabalsam eingeschlossen. Sie wurden nun erst genau durchmustert, etwaige eingeschlichene fremde Bestandtheile durch Betupfen des Deckglases an der betreffenden Stelle mit Tusche ausgeschlossen und die übrigen mit dem Zeichenprisma unter Berücksichtigung etwaiger Einfaltungen auf Millimeterpapier gezeichnet, von dessen gleichmässiger Dicke ich mich vorher durch einige Wägungen gleichgrosser Stücke überzeugt hatte. Die gezeichneten Fragmente wurden nachher aus-

geschnitten und gewogen. Hat man von einigen Radenkörnern die Schalen abgezogen und das Gewicht der ebenfalls mit dem Zeichenprisma abgezeichneten Schalen ermittelt, so ist durch einfache Rechnung zu bestimmen, wieviel Radenkörner oder wieviel Gramm Raden in dem untersuchten Brotquantum enthalten waren.

Die Oberfläche von sechs Radenschalen wurde mit der gewählten Vergrösserung gezeichnet, ausgeschnitten und gewogen und gefunden: 47, 33, 34, 40, 43, 45 mg, im Mittel also 40 mg. 226 Korn lufttrockner Raden wiegen 3 g und enthalten 11,5 % Wasser, indem sie trocken 2,655 g wiegen. Ein trockner Radensamen wiegt somit 11,7 mg, und so oft wir demnach 40 mg Papiergewicht finden, so oft sind 11,7 mg trockne Radensamen zugegen, resp. das Gewicht des gewogenen Papiers ist mit 0,2925 zu multipliciren, um daraus das trockene Radensamengewicht zu bestimmen.

Es wurden öfters zwei, zuweilen drei Bestimmungen aus dem gleichen Brot ausgeführt, die in der Mehrzahl der Fälle untereinander recht gut, ab und zu aber auch weniger befriedigend übereinstimmten. Es verwundert dies aber nicht, wenn man erwägt, dass die Vertheilung der Raden, so wenig wie der Rosinen in einem Stollen, eine vollkommen gleichmässige ist; es kommen nebeneinander Stückchen mit viel und wenig Raden vor. Ein Versuch, durch grobe Zerkleinerung des getrockneten Brotes im Mörser und Theilung der erhaltenen Krümel in zwei Theile gleichmässigere Werthe zu erhalten, schlug fehl, da jede Zerkleinerung des trocknen Brotes auch eine Zertrümmerung der Radenschalen herbeiführt und damit ihre vollständige Gewinnung ausserordentlich erschwert.

Der gewaltige Radengehalt der späteren Proben (Sommer und Herbst 1891) schien mir eine Vereinfachung dieser ziemlich mühsamen Bestimmung zu erlauben. Es wurde nicht mehr gezeichnet, sondern nur noch makroskopisch geschätzt, den Schalen von wie viel Raden die Menge der isolirten, unter einem Deckglase eingeschlossenen Fragmente entspreche. Das Deckglas wurde durch Tintenstriche in soviele unregelmässige Felder zerlegt, das auf jedes Feld die Schale eines Radenkorns traf. Zum Vergleich dienten Präparate, die die Schale je eines mittel-

grossen Radenkorns enthielten. Die Abschätzung jedes Präparates wurde doppelt gemacht und stets in zweifelhaften Fällen die Abschätzung eher zu klein als zu gross gewählt, so dass die gefundenen Werthe schon deshalb Minimalwerthe darstellen. Natürlich lässt auch die Thatsache, dass die allerkleinsten Fragmente bei der grössten Sorgfalt nicht isolirt werden konnten, die Werthe etwas zu klein erscheinen.

In einigen extremen Fällen war auch diese Methode noch zu umständlich. In 8 g Brot waren zweimal derartige Radenschalenmengen, dass an ein Einschliessen der gesammten Fragmente kaum mehr zu denken war. In diesen Fällen wurde die erhaltene Schalenmenge in vier oder sechs gleichmässige Häufchen getheilt und nur ein oder zwei dieser Antheile unter Deckgläser eingeschlossen und nach der an zweiter Stelle angeführten Methode bestimmt. Hier wäre natürlich auch Wägung der dreimal ausgekochten Schalen gut anwendbar gewesen.

2. Mutterkorn. Die Mutterkornfragmente lassen sich unschwer nach Behandeln des Brotes nach der Weender Methode aus den Cellulosebestandtheilen aussuchen, wenn man die oben erwähnten Kriterien berücksichtigt. Dieselben werden dann getrocknet und gewogen, das erhaltene Gewicht wird auf unausgekochtes, lufttrockenes oder getrocknetes Mutterkorn umgerechnet.

10 g lufttrocknes Mutterkorn = Trockensubstanz. 5 g lufttrocknes Mutterkorn ergibt nach der Weender Methode 2,3318 g trocknen Rückstand oder 2,6682 g Abnahme, d. h. 46,64 % Rückstand und 53,36 % Abnahme.

1 g lufttrocknes Mutterkorn ergibt nach der Weender Methode 0,4697 g Rückstand, d. h. 46,97 % Rückstand und 53,03 % Abnahme.

Also entspricht jedes Milligramm ausgezogenes Mutterkorn = 2,13 mg lufttrocknem = 2,0 mg trockenem Mutterkorn.

3. Polygonum Convolvolus. In einigen Proben fanden sich solche Mengen des oben erwähnten Ackerknöterichs, dass eine quantitative Bestimmung geboten schien. Ich hielt aber hier — bei der nach Analogie mit Polygonum Fagopyrum (Buchweizen) — anzunehmenden Unschädlichkeit eine approximative Bestimmung

für genügend. Es wurde demnach analog wie bei der letzten für die Raden angegebenen Methode geschätzt, wie viele vollständige Samenschalen sich etwa aus den vorhandenen Schalen zusammensetzen liessen, und unter Zugrundelegung der Thatsache, dass 10 trockne Samen von Polygonum Convolvolus 36 mg wiegen, das Gewicht des in der trockenen Brotportion vorhandenen Knöterichs berechnet.

4. Kornblume. Hier wurde genau wie bei Polygonum verfahren, 10 trockene Kornblumensamen wiegen 36 mg.

5. Die übrigen Bestandtheile sind nur in ganz annähernder Weise quantitativ bestimmt, besonders sind die Ermittelungen des Wickengehaltes wohl viel zu nieder. Bei der Sicherheit, mit der diese Bestandtheile im Mehl ermittelt waren, bei ihrer geringen toxikologischen Bedeutung gegenüber den sorgfältig quantitativ bestimmten giftigen Samen, glaubte ich mir hier Erleichterungen gestatten zu dürfen und von höchst mühsamen Versuchen, auch hier höchste Genauigkeit zu erzielen, absehen zu können.

Aschebestimmungen sind nur wenige ausgeführt. Viele grobe Brote ergaben zwar ein deutlich sandig-knirschendes Gefühl zwischen den Zähnen, einige Analysen zeigten aber, dass offenbar schon sehr mässiger Gehalt an Mühlsteinstaub, Sand oder Erde genügt, um dies Gefühl hervorzubringen.

d. Feinmehl und Feinbrot.

Untersuchung von Feinmehl auf Unkraut kann nur mikroskopisch oder chemisch vorgenommen werden, nur die letztere Methode arbeitet einigermaassen rasch beim Vorhandensein von Fragmentchen, die charakteristische Färbungen mit saurem Alkohol geben. Da ich viele zu Feinmehl bestimmte unvermahlene Getreideproben untersucht habe, so beschränkte ich meine Feinmehluntersuchungen auf eine Anzahl Bemühungen, Kornraden im Feinmehl nachzuweisen. Sehr leicht gelingt es, die charakteristischen, oft abgebildeten, aus feinsten Körnchen zusammengesetzten Stärkekörner der Rade im Weizenmehl nachzuweisen, wenn letzteres 5 oder 2 % Radenmehl beigemischt enthält, auch bei 1 % hat der Nachweis noch keine besondere Schwierigkeit. Stets fand ich im Zusatz schwacher Jodtinktur, resp. Blaufärbung

der Radenstärke, ein sehr werthvolles Hilfsmittel bei der Diagnose. Da ich über meine Feinmehluntersuchungen nicht ausführlich zu berichten gedenke, so sei hier angeführt, dass ich in den Feinmehlen recht selten und spärlich, in den feinen Siebfractionen von Schrotmehlen dagegen häufig deutliche Radenstärke fand.[1])

In Feinbrot misslingt der Nachweis eines bescheidenen Gehaltes schalenfreien Radenmehles stets; Rhinanthaceensamen, Mutterkorn u. dergl. färbende Samen verrathen sich dagegen bei etwas reichlicher Anwesenheit leicht. Irgendwelche systematische Untersuchungen habe ich an Broten aus feinem Mehl auf Verunreinigung nicht vorgenommen.

2. Resultate der Untersuchung.

Es folgen nun in tabellarischer Uebersicht die Resultate der Getreide-, Mehl- und Brotuntersuchungen. Die Tabellen geben an, 100 g lufttrockenes Getreide oder Mehl oder trockenes Brot enthalten wieviel Milligramm Unkräuter.

a. Getreideuntersuchungen.

Die erhaltenen Resultate sind in Tabellen aufgeführt, die einen beziehen sich auf ungereinigtes resp. nur vom Bauern mit primitiven Hilfsmitteln gereinigtes Getreide, wie es die Mühlen oder Reinigungsanstalten erhalten, die anderen auf gereinigtes, d. h. von den Mühlen oder Reinigungsanstalten als zum Zermahlen fertiggestelltes Getreide.[2])

Es wird nicht überraschen, diese beiden Kategorien vollkommen in einander übergehen zu sehen. Einmal wird das vom Bauern erhaltene Getreide in vielen kleinen Mühlen — oft auf Wunsch des Bauern — nicht weiter gereinigt, zweitens besitzen kleine Mühlen überhaupt oft kaum bessere Reinigungsapparate als die Bauern, und endlich kann ein sorgfältig arbeitender Bauer in trockenem unkrautarmen Jahren, wie 1892, auch mit primitiven Mitteln gutes leisten.

---

1) Gelegentlich auch Spuren anderer Unkräuter.

2) Die Untersuchung der fränkischen Getreidesorten ist unter Mitwirkung des Herrn cand. med. Spiegelhalder aus Lenzkirch ausgeführt, der in seiner Inauguraldissertation näher darüber berichten wird. — Herrn Lagerhausdirector Dürck in München bin ich für die Ueberlassung sehr vieler gereinigter und ungereinigter Getreideproben zu grossem Danke verpflichtet.

Tabelle I
Ungereinigter Roggen.

	1 Würzburg mittel 1891	2 Würzburg D 1892	3 Würzburg E_1 1892	4 Würzburg E_2 1892	5 Würzburg E_3 1892	6 Versbach F_1 1892	7 Versbach F_2 1892	8 Versbach F_3 1892	9 Versbach F_4 1892	10 Bulgarien „ziemlich rein“ 1891	11 Bulgarien Halbfrucht 1891
Mutterkorn	63	119	53	—	—	—	57	12	27	180	—
Brandige Körner	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	72
Raden: Agrostemma Githago	169	99	270	603	423	117	162	234	252	1560	2002
Adonis spec.	32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8
Delphinium consolida	—	—	—	—	—	—	—	28	—	—	—
Delphinium staphysagria	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24	—
Ranunculus arvensis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12
Lolium temulentum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24
Giftige Unkräuter	264	218	323	603	423	117	219	274	279	1714	2118
Wicken (incl. Medicago, Onobrychis etc. Lotus)	82	—	67	—	27	72	23	66	161	334	261
Trespe: Bromus secalinus	104	1080	144	8	120	264	128	48	82	112	80
Flughafer: Avena fatua	—	—	38	76	266	247	247	38	195	114	57
Ackerwinde: Convolvolus arvensis	—	90	11	—	4	46	89	41	103	—	—
Labkraut: Galium tricorne	132	—	35	6	22	8	49	63	56	44	—
Kornblume: Centaurea Cyanus	4	—	13	—	13	—	—	5	10	8	20
Cruciferen, namentlich Raphanus, Sinapis, Camelina	19	49	35	—	8	—	14	—	8	—	—
Knöterich: Polygonum Convolvolus und P. Persicaria	20	5	—	—	—	—	—	11	6	10	40
Melampyrum arvense u. Rhinanthus species	22	—	—	—	—	—	—	—	—	144	8
Umbelliferen (Caucalis, Bupleurum)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	18	8
Fumaria spec.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	36	18
Varia	Galeopsis 18					Allium 22	Silene 21	Cirsium 40		Rediger Weizen 24, Agrop. 6, Unbest. 22	Rediger Weizen 120, Unbest 8
Ungiftige Unkräuter	401	1224	337	90	455	659	571	812	571	850	595
Spelzen und Hülsen	20	100	98	2	68	52	56	2582	1053	104	96
Steine und Erde	—	147	1024	13	72	338	215	295	311	420	42
Mäusekoth	—	14	8	—	—	10	15	41	36	—	—
Schmutz	20	261	1125	15	140	400	286	2918	1400	524	138
Unkräuter u. Schmutz	685	1703	1785	708	1018	1176	1076	3504	2250	3088	2851
Gerste	—	120	—	—	80	80	120	160	200	160	40
Hafer	—	26	—	—	78	—	—	—	52	—	—
Fremdes Getreide	—	146	—	—	158	80	120	160	252	160	40

Tabelle III.
Ungereinigter Weizen.

	1 Oberbayern gut 1892	2 Niederbayern mittel 1892	3 Würzburg D 1892	4 Würzburg B_1 1892	5 Würzburg B_2 1892	6 Würzburg B_3 1892	7 Bräunlingen B_6 Schwarzwald R. I. b. 1892	8 Bräunlingen R. II. f. 1892	9 Bräunlingen R. III. a. 1892	10 Bräunling.[1]) C. I. a. 1892	11 Ungarn prima 1892	12 Banat unrein 1892	13 Rumänien mittel 1891	14 Serbien mittel 1891	15 Rumänien 1891	16 Walachei 1891	17 Serbien 1891	18 Amerika 1891
Mutterkorn	—	—	—	—	—	—	—	—	66	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Brandige Körner	—	—	—	—	—	—	24	—	—	—	—	—	60	114	72	—	—	12
Raden: Agrostemma Githago	89	104	56	212	—	—	—	—	—	—	42	1911	390	1027	—	494	598	—
Adonis spec.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	16	—	—	—	—	—
Delphinium consolida	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	—	—	—	—	—	—
Delphinium Staphys agria	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	12	—	—	—	—
Ranunculus arvensis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	—	—	—	—	12	36	12	—
Lolium temulentum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Giftige Unkräuter	89	104	56	212	—	—	24	—	66	12	42	1931	478	1153	84	530	610	12
Wicken (Vicia, Medicago, Onobrychis, Lotus etc.)	71	16	—	90	—	—	12	—	—	—	16	96	132	232	—	180	1740	—
Trespe (Bromus secalinus)	8	48	—	—	—	—	—	—	8	—	—	—	24	24	—	—	—	—
Flughafer (Avena fatua)	—	—	19	—	57	133	—	19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	45
Ackerwinde (Convolvolus arvensis)	—	—	27	30	—	—	—	—	—	—	—	11	—	—	—	—	—	—
Labkraut (Galium tricorne)	48	—	—	—	—	5	—	36	72	168	24	96	12	12	—	—	—	—
Kornblume (Centaurea Cyanus)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Cruciferen, namentlich: Raphanus, Sinapis, Bunias etc.	—	—	—	—	—	—	—	—	393	—	15	—	—	—	—	—	—	6
Knöterich: Polygonum Convolvulus, u. P. Persicaria)	8	—	—	—	—	—	—	—	20	—	—	35	15	15	10	—	10	—
Melampyrum arvense und Rhinanthus spec.	—	—	—	—	—	—	84	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Umbelliferen (Caucalis, Bupleurum)	—	—	—	—	25	—	—	—	—	—	—	46	—	—	—	46	—	—
Fumaria spec.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	18	—	—	—	—
Varia	Radiger Weizen 84	Radiger Weizen 80	—	Radiger Weizen 229	—	—	—	—	—	—	—	—	Unbest. 8	Unbest. 8	—	Allium 40	Allium 40	Unbest. 83
	Galeopsis 90	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Linum 4	—	—	—	—
	Linum 4																	
Ungiftige Unkräuter	263	144	46	189	82	138	96	55	498	168	55	284	186	313	10	266	1790	84
Spelzen und Hülsen	28	4	83	108	6	47	475	276	25	198	6	40	90	75	24	44	120	164
Steine und Erde	244	—	129	165	—	80	13	20	25	172	56	60	124	932	88	40	564	—
Mäusekoth	—	—	—	18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Schmutz	267	4	212	286	6	127	488	296	50	370	62	100	814	1007	112	84	684	164
Unkräuter und Schmutz	569	252	314	637	88	265	608	351	609	550	159	2815	978	2473	206	880	3084	260
Gerste	200	—	160	640	—	680	—	200	—	—	—	—	—	120	—	—	—	1040
Hafer	52	—	—	156	—	—	52	—	26	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fremdes Getreide	252	—	160	796	—	680	52	200	26	—	—	—	—	120	—	—	—	1040

1) Mischung von Spelz und Weizen.

Tabelle II
Gereinigter Roggen.

	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
	Würzburg D.	Würzburg E₁	Würzburg E₂	Würzburg M.	Würzburg B₁	Würzburg B₂	Würzburg N.	Schaippach Landmühle Franken A	Schaippach Landmühle Franken B.	Bulgarien in München gereinigt	Fränkische Landmühle L.	Fränkische Landmühle V.
	in Kunstmühlen gereinigt										angeblich gereinigt¹)	
	1892	1892	1892	1892	1892	1893	1892	1892	1892	1891	1892	1892
Mutterkorn	—	—	10	111	—	73	56	59	25	11	126	249
Raden: Agrostemma Githago	9	27	36	54	18	18	—	—	—	207	1998	945
Adonis spec.	—	—	—	12	—	—	—	—	—	—	—	—
Delphinium consolida	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Delphinium staphys agria	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ranunculus arvensis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lolium temulentum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	56	—	—
Giftige Unkräuter	9	27	46	177	18	91	56	59	25	275	2124	1194
Wicken {incl. Medicago, Onobrychis etc. Lotus}	—	25	—	43	—	8	—	—	—	5	78	11
Trespe: Bromus secalinus	40	88	120	120	24	—	—	—	—	16	80	48
Flughafer: Avena fatua	—	38	57	38	19	—	19	—	—	57	57	57
Ackerwinde: Convolvolus arvensis	8	—	7	10	—	20	—	—	—	11	21	5
Labkraut: Galium tricorne	8	5	4	10	—	—	—	—	—	12	52	52
Kornblume: Centaurea Cyanus	—	4	5	—	—	6	—	—	—	4	—	—
Cruciferen, namentlich Raphanus, Sinapis, Bunias	13	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Knöterich: Polygonum Convolvolus u. P. Persicaria	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
Melampyrum arvense u. Rhinanthus spec.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	36	—	—
Umbelliferen (Caucalis Bupleurum etc.)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11
Fumaria officinalis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Varia	Scleranthus	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ungiftige Unkräuter	79	170	193	221	43	34	19	—	—	141	288	168
Spelzen und Hülsen	64	7	16	19	9	43	21	—	—	2	12	47
Steine und Erde	80	134	48	18	80	104	—	—	73	52	178	57
Mäusekoth	—	11	—	14	—	—	62	—	—	—	42	37
Schmutz	144	152	64	51	89	147	83	—	73	54	232	141
Unkräuter u. Schmutz	232	349	303	449	100	272	158	59	98	370	2644	1503
Gerste	—	80	80	80	40	160	40	—	—	—	78	26
Hafer	—	—	—	—	—	130	—	—	78	40	146	106
Fremdes Getreide	—	80	80	80	40	290	40	—	78	40	224	132

1) Ueber Analysen 22 und 23 vergl. S. 102.

Tabelle IV.

Gereinigter Weizen.

	19 Würzburg D	20 Würzburg B_1	21 Würzburg B_2	22 Würzburg NV_1	23 Würzburg NV_2	24 Würzburg NV_3	25 Bräunlingen einheimischer Weizen in Landmühle gereinigt	26 Bräunlingen ausländischer Weizen in Landmühle gereinigt	27 Serbien 1891 in München gereinigt	28 Bulgarien 1891 in München gereinigt
Mutterkorn	—	—	29	—	—	—	—	—	—	—
Brandige Körner	—	—	—	—	—	—	—	10	—	—
Raden = Agrostemma Githago	32	—	18	81	—	99	—	13	26	39
Blutströpfchen = Adonis spec.	—	—	—	—	—	—	—	18	—	—
Rittersporn = Delph. consolida	–	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rittersporn = Delph. staphys agria	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ackerhahnenfuss = Ranunculus arvensis	—	—	—	—	—	—	—	48	—	—
Taumellolch = Lolium temulentum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Giftige Unkräuter	32	—	47	81	—	99	—	89	26	39
Wicken {incl. Medicago, Onobrychis, Lotus etc.}	55	—	112	—	—	—	86	44	—	—
Trespe = Bromus secalinus	—	—	—	—	—	—	16	—	—	—
Flughafer = Avena fatua	—	152	57	—	38	—	38	—	—	—
Ackerwinde = Convolvol. arvensis	—	44	31	—	—	—	—	11	—	—
Labkraut = Galium tricorne	—	3	—	4	18	—	—	180	—	—
Kornblume = Centaur. Cyanus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cruciferen (Sinapis, Raphanus etc.)	—	—	—	—	—	—	—	42	—	—
Knöterich = Polygonum Convol. und P. Persicaria	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Melamp. arvens. und Rhinanth. species	—	—	—	—	—	—	96	12	—	—
Umbelliferen {Caucalis, Bupleurum etc.}	—	—	—	21	—	—	—	23	—	23
Fumaria	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9
Varia	—	—	—	—	—	Raupe 16	—	—	—	—
Ungiftige Unkräuter	55	199	88	25	56	16	186	312	—	32
Spelzen und Hülsen	17	6	—	44	78	38	494	467	19	8
Steine und Erde	—	—	—	—	183	—	34	100	40	322
Mäusekoth	10	2	—	—	97	—	—	—	—	—
Schmutz	27	8	—	44	358	38	528	567	59	330
Unkräuter und Schmutz	114	207	135	150	414	153	714	968	85	401
Gerste	160	1360	640	40	480	40	—	2560	280	920
Hafer	—	182	78	—	—	—	—	—	—	—
Fremdes Getreide	160	1542	718	40	480	40	—	2560	280	920

Tabelle V.

4 Beispiele über die Wirkung der Getreidereinigung in Putzanstalten und mit ländlichen Mitteln.

	Serbischer Weizen		Bulgarische Halbfrucht	in München		Bräunlingen Weizen		Bräunling. Weizen	
	ungeputzt	in München geputzt	Original	daraus geputzt. Weizen	daraus geputzt. Roggen	von der Tenne	vom Bauer gereinigt	von der Tenne	vom Bauer gereinigt
Mutterkorn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Brandige Körner	114	—	72	—	—	—	24	—	—
Raden = Agrostemma Githago	1027	96	2002	39	208	—	—	—	—
Blutströpfchen = Adonis spec.	—	—	8	—	—	80	—	—	—
Rittersporn = Delph. consolida	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rittersporn = Delph. staphys agria	—	—	12	—	—	—	—	—	—
Ackerhahnenfuss = Ranunculus arvensis	12	—	—	—	—	—	—	—	—
Taumellolch = Lolium temulentum	24	—	24	—	56	—	—	—	—
Giftige Unkräuter	1177	26	2118	39	264	80	24	—	—
Wicken { incl. Medicago, Onobrychis, Lotus etc. }	282	—	261	—	5	50	12	—	—
Trespe = Bromus secalinus	24	—	80	—	16	—	—	—	—
Flughafer = Avena fatua	—	—	57	—	57	—	—	100	19
Ackerwinde = Convolvolus arvensis	—	—	—	—	11	—	—	—	—
Labkraut = Galium tricorne	12	—	—	—	12	36	—	60	36
Kornblume = Centaurea Cyanus	—	—	—	—	4	—	—	—	—
Cruciferen (Sinapis, Raphanus etc.)	—	—	—	—	—	—	—	10	—
Knöterich = Polygonum Convolv. und P. Persicaria	15	—	40	—	—	20	—	—	—
Melampyrum arvense und Rhinanth. spec.	—	—	8	—	—	480	84	60	—
Umbelliferen { Caucalis, Bupleurum etc. }	—	—	—	—	—	—	—	10	—
Fumaria	18	—	18	9	—	—	—	—	—
Varia	—	—	—	—	—	—	—	100	—
Ungiftige Unkräuter	301	—	464	9	105	586	96	340	55
Speisen und Hülsen	75	19	96	8	2	18000	475	16500	276
Steine und Erde	932	40	42	322	52	350	18	300	20
Mäusekoth	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Schmutz	1007	59	138	330	54	18350	488	16800	296
Unkräuter und Schmutz	2485	85	2720	378	423	19016	608	17140	351
Gerste	120	280	40	920	—	—	—	—	—
Hafer	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fremdes Getreide	120	280	40	920	—	—	—	—	—

b. Schrotmehluntersuchungen.

Tabelle VI.

Unkrautgehalt von niederrheinischen und einem ostpreussischen Schrotmehl. (Winter 1890.)

Auf 100 g lufttrockenes Mehl kommen mg lufttrockenen Unkrauts.

	Grevenbroich I	Grevenbroich II	Grevenbroich III	Grevenbroich IV	Sensburg (Ostpreussen) VII	Grevenbroich V	Hamburg VI
1. Unzerquetschte Roggenkörner	—	457	110	—		0	0
2. Strohhalme und Spelzen	31	56	—	—	nicht weiter getrennt (2.–8.)	nicht weiter getrennt (2.–10.)	vorhanden
3. Wicken	563	602	3759	245			Spur
4. Wickenhülsen . .	—	089	104	—			0
5. Kornblumen	89	094	122	144			vorhanden
6. Kornraden . . .	112	176	147	118			vorhanden
7. Mutterkorn . . .	82	112	54	81			vorhanden
8. Taumellolch . . .	—	17	—	18			
9. Varia (vereinz. Samen)	164	83	12	148	besonders reichlich Spelzen von Agropyrum repens u. Bromus secalinus		vorhanden
10. Erdbröckelchen und Mäusekoth . . .	57	153	25	82			
Summa (von 2—10)	1098	1382	4223	831	287	1444	536

Zur Controle der beim Brote angewendeten Methode wurden auch nach derselben (Zeichnen der isolirten Radenfragmente) Radenbestimmungen im Mehl gemacht; dieselben ergaben

Mehl Grevenbroich	II	161 mg	in 100 g Mehl.
»	III	194 mg	
»	IV	101 mg	

c. Brotuntersuchungen.

Tabelle VII.

Unkrautgehalt von Schrotbroten.

100 g trockenes Brot enthielten Raden und andere Unkräuter in mg.

(Die Zahlen für Wicken, Wickenschalen und Stroh sind nur ganz annähernd richtig.)

Fortlaufende Nr.	Protokoll-Nr	Provinz und Jahr	Ort der Herstellung	Kornrade	Mutterkorn	Polygonum	Kornblume	Wicke	Galium	Stroh, Spelzen und Wickenschalen	Kleine dunkle Samen: Sinapis, Thlaspi etc.
1	I	Rheinprov. 1890	Jüchen	636			203	2			
2	III		» (J. M.) . .	324							
3	IV		» (H. O.) . .	124							
4	V		Garzweiler (R.) .	616		22	16				

Fortsetzung zu Tabelle VII.

Fortlaufende Nr.	Protokoll-Nr.	Provinz und Jahr	Ort der Herstellung	Kornrade	Mutterkorn	Polygonum	Kornblume	Wicke	Galium	Stroh, Spelzen und Wickenschalen	Kleine dunkle Samen: Sinapis, Thlaspi etc.
5	76	Rheinprovinz 1890	Grevenbroich (A. P.)	0	wenig	45					
6	75		Grevenbroich (183. K.) . . .	196						ziemlich viel	
7	53		Zülpich	68							
8	64		Krefeld	66							
9	II		Jüchen	256							
10	87	Rheinprovinz 1891	Grevenbroich A .	75	793	1107		225			432
11	88		» B .	150	99	45	9	675			50
12	89		» C .	225	463	108	2	1350			250
13	90		» D .	7300	86	216	9	c. 3500			50
14	91		» E .	112	145	234	23	135			50
15	92		» F .	337	926	386	36	135			200
16	23	Westphalen 1890	Koesfeld süss . .	291			115				
17	41		» sauer .	91						sehr viel	
18	26		Hagen sauer . .	81						wenig	
19	37		Bochum dunkel .	0						wenig	
20	38		» hell . .	15						0	
21	27	Hannover	Emden 1890 . .	0					25		
22	95	Hamburg	Hamburg 1891 .	0							
23	5	Mecklenburg	Hagenau 1890 .	41							
24	50	Pommern	Stettin 1890 . .	0							
25	93	Ostpreussen	Sensburg 1891 .	150			23			massenhaft	25
26	57		Angerburg 1890 .	0					0		
			Gross-Schönau 1891								
27	100		Gesindebrot a)	3600	48		27	67			
28	102		» b)	137	33						

Versuchen wir nun an Hand unserer Tabellen ein Urtheil über den Unkrautgehalt der deutschen Brotfrucht abzugeben.

Ungereinigtes Getreide hat gegenüber gereinigtem einen wesentlich höheren Gehalt an giftigen und ungiftigen Unkräutern sowohl wie an Schmutz, Tabelle V zeigt dies besonders schön. Der Gehalt an giftigen Unkräutern ist wesentlich vermindert: während er im ungereinigten Roggen meist gegen 0,3% betrug (0,1—0,6) und einmal sogar je 1,7 und 2,1 %, war er im gereinigten Roggen sehr niedrig, meist unter 0,1 % (0,009—0,27). Der Gehalt an ungiftigen Unkräutern ist von etwa 0,6 %

(0,09—1,22) auf etwa 0,1 (0,019—0,221) herabgesetzt, sehr vollständig wird der Schmutz entfernt von etwa 0,5 (0,020—2,918) auf etwa 0,08 (0,000—0,147). Der Gesammtgehalt an giftigem und ungiftigem Unkraut und Schmutz sinkt etwa von 2 % (0,68—3,08) auf 0,3 %.

Aehnlich liegen die Verhältnisse beim Weizen, giftige Unkräuter enthielt der gereinigte nie über 0,09 %, ungiftige nicht über 0,2, die stärkste Verunreinigung bestand beim Weizen im gereinigten Getreide aus Erde und Steinchen, doch blieb auch hier der Gesammtgehalt der mit ordentlichen Mitteln gereinigten Weizensorten an Unkraut und Schmutz etwa auf 0,2—0,3 %, nur bei zwei in Landmühlen gereinigten badischen Proben fand sich durch hohen Schmutzgehalt im gereinigten Getreide bedingt die auffallend hohe Gesammtverunreinigung von 0,71 und 0,968 %.

Es lässt sich also etwa aussprechen, dass ein mit guten Hilfsmitteln sorgfältig gereinigtes Getreide nicht über 0,2—0,3 % insgesammt an Unkraut, kranken Getreidekörnern und Schmutz enthalten darf, eine noch bessere Reinigung dürfte kaum allgemein durchführbar sein. Immerhin gelingt es, wie z. B. aus den Analysen 20 und 21 hervorgeht, wenigstens in unkrautarmen Sommern selbst Landmühlen, ein fast absolut unkrautfreies Getreide zu erzeugen (Unkraut und Schmutzgehalt 0,056 u. 0,098 %).

Proben, die über 0,5 % Unkraut und Schmutz enthalten, dürfen schon als ungenügend gereinigt angesprochen werden — dieselben finden sich in den Gegenden, wo feines Mehl aus dem Getreide gewonnen wird, soweit mein Untersuchungsmaterial reicht, selten.[1]) Proben, wie der angeblich gereinigte Roggen Nr. 22 und 23, zählen in Süddeutschland zu den grössten Ausnahmen; ich kann mich auch nicht des Glaubens entschlagen, dass hier ganz besondere Veranlassungen zur Zermahlung des unkrautreichen Getreides vorgelegen haben.

---

1) Nevinny fand (Zeitschr. f. Nahrungsmitteluntersuch. und Hygiene Bd. 5 Heft 11, 1891) in 609 in Wien untersuchten Mehlproben 106mal Unkräuter, hiervon in 19 % der Fälle Kornraden und zwar in der procentualen Menge von 1/5—2. — Wie der Nachweis geführt ist, ist leider nicht angegeben; vermuthlich mikroskopisch.

Wesentlich schlimmer scheinen die Verhältnisse in den Schrotbrot essenden Distrikten Norddeutschlands zu liegen. Ist auch hier — wie überall — in den Städten ein annähernd oder vollständig unkrautfreies Brot aus Schrotmehl zu finden (Tabelle VII Nr. 19 aus Bochum, Nr. 21 und 22 aus Hamburg und Emden u. s. f.), so sind doch die Verhältnisse in den Landdistrikten vielfach als sehr schlecht zu bezeichnen. Der Radengehalt betrug sehr häufig 0,1—0,2, Gehalte von 0,6 wurden zweimal, einmal je 3,6 % und 7,3 %! beobachtet.

Mutterkorn war 1891 in der Mehrzahl der rheinischen Landbrote vorhanden, es kamen Gehalte bis 0,9 % zur Beobachtung.

Wicken wurden in Schrotmehl mehrfach 0,5 aber bis 3,7 % nachgewiesen, in Broten sehr vielfach 1—2—3,5 %. Wickenhülsen waren nicht selten in Menge (0,1 % und weit mehr) vorhanden, Kornblumen bis 0,16 und 0,2, Windender Knöterich bis 1,3 %, andere nicht näher bestimmbare Samen auch noch mehrfach 0,2—0,4 %.

Die Schmutzmengen erscheinen, wenn man hört, dass im Schrotmehl 0,057—0,153 % Erde und Mäusekoth gefunden wurden, nicht allzu hoch; vergegenwärtigen wir uns aber, dass die letztere Zahl bedeutet, dass in den beiden gröbsten Fractionen, die im Gewicht von 60,5 g aus 100 g Mehl abgeschieden waren, 83 Erdbröckelchen und 4 Mäusekothballen enthalten waren, so gibt dies schon eine bessere Vorstellung von der groben Nachlässigkeit, mit der bei der Herstellung verfahren wurde.

Es geht für mich aus diesen beim Schrotbrote und Schrotmehl erhaltenen Zahlen durchaus hervor, dass in den ländlichen Schrotbrotdistrikten die Reinigung des Getreides fast durchweg sehr flüchtig — vielfach, wie es scheint, absichtlich gar nicht vorgenommen wird.

Dass derartige hohe Schmutz- und Unkrautgehalte unappetitliches und minderwerthiges[1]) Brot liefern, bedarf keiner weiteren

1) Die Raden enthalten nach Lehmann und Mori (l. c.) 8,2 % Cellulose, der Weizen 2,66 % nach König

Ausführung, doch scheint mir dies der kleinere Einwand gegen die Zulässigkeit des Unkrautgehalts zu sein.

Wir müssen vielmehr noch einen Schritt weiter gehen. Ich habe schon mehrmals den Standpunkt vertreten[1]), dass jedes Brot, das reichlich Unkrautsamen enthält, vom menschlichen Genusse auszuschliessen sei, da damit die Möglichkeit bewiesen sei, dass sich auch giftige Unkräuter in den betreffenden Gebäcken finden. Ich habe das ausgesprochen, ohne zu ahnen, welche traurigen Zustände in Deutschland in dieser Beziehung herrschen. Jetzt kann ich sagen: mindestens einige meiner Brote waren direct geeignet, die menschliche Gesundheit zu beschädigen; denn die beiden bekanntesten giftigen Unkräuter, Kornrade und Mutterkorn, fanden sich einige Male in solchen Mengen, dass wir auf Vergiftung gefasst sein mussten. Ich will hier den Taumellolch, den ich zweimal in kleinen Mengen fand, Delphinium, Ustilagineensporen und andere, seltener und spärlich im Getreide vorkommende Verunreinigungen nur beiläufig erwähnen, muss aber der Kornrade und dem Mutterkorn etwas mehr Raum widmen.

Die Kornrade ist längst als giftig erkannt; die Untersuchung, die ich mit Mori[2]) vor einigen Jahren in diesem Archiv publicirte, hatte dargethan, dass unter den Thieren besonders die Fleischfresser (Hunde und Katzen), daneben aber auch der Mensch, gegen die Einfuhr von Kornraden sehr empfindlich reagiren. Wir hatten durch Selbstversuche nachgewiesen, dass 2 bis 3 g Radenmehl zu etwa 20 g Weissbrot verbacken noch wirkungslos für den Erwachsenen waren, dass aber 3 bis 5 g Raden in 20—25 g Brot in drei Versuchen Kratzen im Hals, später Ueblichkeit, etwas Aufstossen, kurz die Zeichen eines leichten Magenkatarrhs machten; in einem Versuche trat auch verstärkte Schleimsecretion im Respirationstractus, etwas Heiserkeit und Husten auf. Es sei dabei noch ausdrücklich darauf

1) K. B. Lehmann, Ueber blaues Brot (A. f. H. IV, S. 167); vergl. auch meine Methoden der prakt. Hygiene, Wiesbaden 1890, S. 390.

2) K. B. Lehmann und R. Mori, Ueber die Giftigkeit und die Entgiftung der Samen von Agrostemma Githago. A. f. H., IX.

aufmerksam gemacht, dass wir das Radenmehl nicht roh, sondern kunstgerecht zu etwa 20% unter Weissbrotteig gemischt und zu Brot verbacken genossen, um jeden Zweifel darüber auszuschliessen, ob nicht schon das einfache Backen die Wirkung des Giftes zerstöre.

Seither sind zwei weitere Arbeiten über Kornrade erschienen, welche unsere Angaben bestätigen und theilweise erweitern, aber leider keine neuen Versuche am Menschen bringen. Pusch[1]) hat die von uns zuerst beobachtete, auffallend grosse Immunität des Kaninchens, der Ratte und der Maus bei Radenfütterung auch für Schafe gefunden, auch Kruskal[2]) bestätigt sie für Kaninchen und Ratten, beobachtete aber bei Monate langer, sehr intensiver Fütterung der letzteren dennoch deletäre Wirkung.

Pusch's Fütterungsversuche bestätigten auch wieder die Angaben der Literatur, wonach namentlich junge Kälber und Schweine für das Gift empfänglich sind, und erweiterten namentlich unsere Kenntnis der Wirkung des Radengifts auf Pferde.

Seine relativ günstigen Resultate bei Hundefütterung sind vielleicht durch das Erbrechen, das theils angegeben ist, theils aber wohl übersehen ist, zu erklären.

Kruskal hat mit seinem Agrostemmasapotoxin, wie er den einzigen Körper aus der Gruppe der Saponinsubstanzen benennt, den er in der Kornrade fand, eine grosse Reihe chemischer und toxikologischer Versuche angestellt. Von seinen Ergebnissen interessirt uns besonders: Katzen sterben schon rasch, wenn sie pro Kilo 2,6 g Radenmehl in den Magen bekommen und durch Oesophagusunterbindung am Erbrechen gehindert sind. Mori und ich hatten uns schon von der sehr grossen Empfindlichkeit der Katzen überzeugt, uns aber mit der Constatirung, dass 1,2 g pro Kilo vertragen wird — aber 1,5 g pro Kilo schon starkes Erbrechen bewirkt, begnügt (a. a. O. S. 205). Die grosse Giftigkeit für Hunde ist durch die Literaturangaben genügend belegt. Subcutan tödtet das Gift leicht Kaninchen.

1) Pusch, Ueber die Schädlichkeit der Kornrade. Deutsche Zeitschrift für Thiermedicin, XVI.

2) Kruskal, Ueber Agrostemma Githago. Arbeiten des pharmakologischen Instituts zu Dorpat, Bd. VI, S. 89, 1891.

Besonders interessant war mir in Kruskal's Arbeit die Mittheilung, dass die russische Militärintendantur im Mehl und Brot einen Gehalt bis zu 0,5% Kornrade zulässt. Kruskal verwahrt sich gegen diese Duldsamkeit, da dadurch in den 1200 g Soldatenbrot 6 g Kornrade zugeführt werden können, »eine Menge, die schon recht starke Intoxikationen hervorzurufen im Stande ist.[1])

Fragen wir, wie oft in unseren 27 Schrotbroten Mengen gefunden wurden, geeignet, beim Verzehren von 750 g (der deutschen Soldatenration) Störungen hervorzurufen, so lautet, wenn wir 40% Wasser im Brot, also 450 g Trockensubstanz, annehmen, das Urtheil so:

Mehr als 4 g lufttrockene = 3,56 g trockene Raden — die nach unseren Versuchen schon deutliche Symptome machen — sind in 450 g trockenen Brotes bei zwei Broten enthalten und zwar wenn die Zahlen auf Decigramme abgerundet werden,

13) Grevenbroich D. 32,85 g
27) Gross Schönau 16,2.

Brot 13 und 27 enthalten geradezu enorme Mengen Raden, nach unseren Ermittelungen müssten 32 und 16 g schon intensive acute Vergiftungen hervorzubringen im Stande sein. Lewin[2]) bezeichnet leider ohne Quellenangabe 30 g als geeignet, um beim Menschen toxische Erscheinungen hervorzurufen.

Brot 13 muss aus einem ganz gewaltig verunreinigten Getreide hergestellt sein. Gestützt auf Mittheilungen des Herrn Lagerhausdirector F. Dürck in München wurde von mir (Archiv f. Hygiene Bd. IX. p. 258) der Gehalt an Ausreuter d. h. an Samen von der Grösse der Raden im ungereinigten Getreide aus dem Osten Europas als bis 8% ansteigend angegeben; unter den von mir oben mitgetheilten Untersuchungen ergab keine ein derartiges Resultat. Jetzt habe ich über ein deutsches Brot zu berichten,

---

1) Auffallend erscheint, dass im Mehl und Brot $^1/_2$% Kornrade zugelassen wird. Mehl mit $^1/_2$% Kornrade liefert Brot mit ca. 0,4%, während durch die Gestattung von $^1/_2$% Kornrade haltigem Brot auch Mehl mit ca. 0,7% Kornrade zulässig erscheint.

2) Lewin, Lehrbuch der Toxikologie, Wien 1885, S. 368.

das factisch 7,3% reine Raden in der Trockensubstanz enthält! In Russland scheint derartiges allerdings häufiger vorzukommen. Kobert berichtet in einer Nachschrift zu Kruskal's Arbeit, dass Orlow in einer Arbeit: Untersuchungen des ungemahlenen Getreides und des Mehles etc. aus dem Gouvernement Wjatka Kasan 1891 angibt, man setze dem »Mehl für die Civilbevölkerung ganz ungenirt, ja bona fide beträchtliche Mengen von Kornradensamen zu«, 10% Kornrade sollen nach Orlow häufig zu finden sein! — Wenn wir die grausenerregenden Berichte über den Nothstand in Russland gelesen haben, können wir verstehen, dass die Versuchung sich regen kann, alles halbwegs essbar Erscheinende mit zum Brote zu fügen — dass Aehnliches aber auch in Deutschland vorkäme, hätte ich und mit mir wohl noch Viele nicht für möglich gehalten.

Nun möchte aber ein Zweifler fragen: sind denn die Kornraden in der That so giftig, wie es die Laboratoriumsexperimente darthun? und bei Gelegenheit meiner vorläufigen Mittheilung auf der Naturforscherversammlung in Halle letzten Herbst bin ich in der That in diesem Sinne interpellirt worden. Als Grund für den Zweifel hört man immer äussern: dann müssten ja Kornradevergiftungen ausserordentlich viel häufiger sein, als sie es den spärlichen Angaben der Literatur nach sind. In der That habe ich den zwei alten Gruppen zudem nicht absolut sicherer Fälle von Kornradenvergiftung[1]), die ich Archiv f. Hygiene Bd. IX p. 266 erwähnte, keine neuen beizufügen — sie scheinen demnach in der That entweder selten diagnosticirt zu werden oder aus irgend einem noch unbekannten Grunde selten zu sein. Ich kann bei den Fortschritten der klinischen Diagnostik das erstere nicht annehmen und habe desswegen nach Erklärungen für die zweite Möglichkeit gesucht und, wie ich glaube, auch einen Hauptgrund gefunden.

---

1) Ich muss einräumen, dass es mir nach den jetzt reichlicher vorliegenden Resultaten von neueren Thierversuchen, die gar nichts von nervösen Symptomen berichten, immer fraglicher wird, ob die Todesursache in diesen beiden Beobachtungen in der That die Kornrade war. In den Fällen von Villeneuve ist wenigstens soviel von Kopfweh, Schwindel, Coma berichtet, dass wohl Lolium oder »Taumelgetreide« als Neben oder Hauptursache gewirkt hat.

Es schien mir im Anfang das Wahrscheinlichste, dass grosse Schwankungen im Giftgehalt der Raden vorkämen. Pusch hat in der That an Pferden eine Reihe von Beobachtungen gemacht, die eine wechselnde Giftigkeit der Kornrade nach Standort und Jahrgang vielleicht auch nach der Aufbewahrungsdauer darthun. Da Aehnliches bei anderen Giftpflanzen auch vorkommt, so hat dies nichts Wunderbares; nur bleibt dann unverständlich, dass nicht wenigstens ab und zu besonders heftige Erkrankungen vorkommen. Auch die Erklärung der Unschädlichkeit durch Gewöhnung erscheint durchaus unbefriedigend, da dann ab und zu Ungewöhnte erkranken müssten.

Meine Erklärung ist folgende. Schon in den Selbstversuchen von Mori und mir, die in der vielfachen Kornradenpolemik der letzten Jahre stets citirt aber fast nie[1]) wiederholt sind, tritt bei genauer Betrachtung hervor, dass die Giftigkeit des Weissbrotes mit 4 g Raden geringer ist als von 4 g Raden allein. Ich sagte mir nun, dass es sehr wahrscheinlich sei, dass bei längerer Einwirkung der Backofenhitze — wir hatten Semmel rasch gebacken

1) In neuester Zeit theilen Kornauth und Arche (Landw. Versuchsstationen, XL, 1892, S. 182) mit, dass sie einen 5 kg schweren Brotlaib (Weiss- oder Schwarzbrot ist nicht gesagt) mit ca. 40% abgesiebtem Radenmehl hergestellt haben, und dass mehrere erwachsene Personen aber auch zwei Kinder von 6 und 12 Jahren von demselben genossen (wieviel ist nicht gesagt!), ohne irgend eine Belästigung zu verspüren. — Wichtiger als dieser sehr nebenher mitgetheilte Versuch sind die sorgfältigen Fütterungs- resp. Mästungsversuche an drei Schweinen, von denen die beiden gut fressenden bei einer 40% Kornrade enthaltenden Mischung trefflich gediehen! — Da dieselben Forscher auch mit dem alkoholischen abgedampften Auszug aus 20 g Raden gar keine Wirkung bei subcutaner Injection am Kaninchen hatten, so ziehen sie die Giftigkeit der Kornrade überhaupt in Frage und äussern sich sehr skeptisch über die bisherigen Versuche zur Isolirung des giftigen Princips. — Es ist selbstverständlich, dass diese negativen Resultate nicht das mindeste gegen die positiven Ergebnisse so vieler Forscher beweisen, speciell haben in neuerer und neuester Zeit Mori und ich in München und Kruskall und Kobert in Dorpat vollkommen übereinstimmende Resultate gehabt — warum unsere Arbeiten gar nicht erwähnt sind, weiss ich nicht. Ich kann aus den Arbeiten von Kornauth und Arche nur schliessen, dass die Kornraden noch in weit höherem Grade in ihrer Giftigkeit variiren, als man etwa nach Pusch's Angaben annehmen durfte.

— vielleicht unter Mitwirkung des Säuregehalts des Brotes — wir hatten fast säurefreies Weissbrot verwendet — eine starke, ja vielleicht vollständige Zerstörung des Agrostemmasapotoxins zu erwarten sei.

Durch einige Versuche, die zwei meiner jüngeren Schüler bereitwillig an sich anstellten, konnte ich die Richtigkeit dieser Vermuthung glänzend erweisen.

Es wurde aus 250 g Radenpulver und dem in Würzburg üblichen backfertigen Graubrotteig (Roggen- und Weizenmehl, Sauerteig, Backstubentemperatur, Gährungsdauer 11—12 Stunden) ein Brot von 1850 g Gewicht gebacken. 100 g des Brotes verbrauchen 10,8 cbcm Normal-Natronlauge zur Neutralisirung — Indicator Phenolphthaleïn. Es waren von den gleichen Raden dazu verwendet, die im Jahre 1886, d. h. vor sechs Jahren, zu den Weissbrotversuchen gedient hatten.[1]) 100 g Brot enthalten 13,5% Raden. 3 g von diesem Brot (mit 0,4 g Raden) bringen schon an einem Praktikanten, meinem Diener und mir deutliches Halskratzen hervor. Der Versuch wird mehrfach mit gleichem Resultat wiederholt. Zwei andere Herren essen davon je 62 g mit 8,4 g Raden; tüchtiges Halskratzen, Abends leichte Appetitlosigkeit sind die Folgen. Zwei Tage darauf isst einer der Herren Morgens ½10 Uhr 124 g dieses Brotes mit 16,8 g Raden. Das Kratzen im Hals hält eine Stunde lang an, von 12—1 Uhr bestehen Leibschmerzen, die auch nach dem ohne Appetit verzehrten Mittagessen noch anfallsweise im Laufe des Mittags wiederkehren. Am Abend fühlte er sich wieder wohl. Es zeigen also die Raden in diesem Versuche schon eine deutlich abgeschwächte Wirkung — dieselbe war etwa auf ¼ herabgesetzt.

Noch schöner ist das Ergebnis des zweiten Versuches. Es wird wieder eine Mischung von obigem Teig und 250 g Radenpulver

1) Diese Raden waren in München aus osteuropäischem Getreide gewonnen und vollkommen frei von jeder Verunreinigung ausgesucht. Schon das Zerkauen und Verschlucken von 1—2 rohen Körnern reicht noch heute hin, um merkliches Halskratzen zu erzeugen.

hergestellt, sodass nach dem Backen 1850 g Brot erhalten werden, aber der Teig steht nach Beimischung des Radenpulvers weitere 24 Stunden und gährt während dieser Zeit mit Sauerteig so intensiv, dass 100 g frisches Brot 26 cbcm Normalnatronlauge gebrauchen zur Herstellung neutraler Reaction — Indicator Phenolphthaleïn. Dieses sehr sauer schmeckende, unangenehme Brot erzeugte kaum eine Andeutung von Halskratzen, als 80 und später 130 g gegessen wurden, sowohl bei mir als bei meinen Schülern.

Es ist damit bewiesen, dass bei starker Säuerung (und vielleicht unter Mitwirkung der langen Backdauer der grossen Schrotbrotleibe) leicht eine annähernd vollständige Entgiftung der Raden[1]) zu Stande kommt. Dass solche hohe Säuregrade gerade da vorkommen[2]), wo das unreinste Getreide sich findet, ist interessant. Die Nachlässigkeit bei der Brotgährung compensirte einigermaassen die Nachlässigkeit der Mehlbereitung.

Es wird aber auch Mehl als »süsser« Pumpernickel fast säurefrei[2]), Mehl zu Klösen, zu Brei und dergl. verarbeitet gegessen, — es ist mir vorläufig noch durchaus fraglich, ob bei diesen Zubereitungsweisen ebenfalls das Sapotoxin befriedigend zerstört wird, und ich halte nach wie vor jedes Mehl, das über 0,5% Kornraden enthält, für ungeeignet für den menschlichen Genuss;[3]) Mehl mit über 1% kann unter Umständen bei reichlichem Genuss die menschliche Gesundheit beschädigen.

Wenden wir uns nun zum Mutterkorn. Im Jahre 1890 hatte ich nur in einem Brote (Tabelle VII Nr. 5), wohl aber in

1) Auch das Rhinanthin, das Glykosid des Wachtelweizens und Klappertopfs spaltet sich beim Backen nur reichlich unter Bildung von blauem oder violettem Farbstoff, wenn der Teig stark sauer ist; aus Weissbrot (Hefebrot) ist, wie ich fand, kein blaues Brot herstellbar. Vergl. auch Gaspard, Annales de Pharmac., 1832, T. II, S. 108.

2) Vergl. hierüber Abschnitt III: Der Säuregehalt des deutschen Brotes.

3) Nevinny beantragte (l. c.), kornradehaltiges Mehl ist absolut unzulässig, ohne eigene Versuche in der Angelegenheit angestellt zu haben.

allen vier Mehlen Mutterkorn in bescheidener Menge gefunden, immerhin mein Befremden über diese grobe Nachlässigkeit gegenüber dem bekanntesten und gefürchtetsten giftigen Unkraut auf der Naturforscherversammlung in Halle nicht unterdrückt. Das Jahr 1891 lieferte ein stark mutterkornreiches Getreide — ich konnte persönlich am Unterrhein und in Oberbayern Aecker sehen, in denen fast jede Aehre mehrere Mutterkörner aufwies — das niederrheinische Schrotbrot liess in Folge dessen in den sechs untersuchten Proben durchweg einen Gehalt von 0,086 bis 0,926 % Mutterkorn erkennen (an der Trockensubstanz).

Wo liegt für Mutterkorn die Grenze der Giftigkeit? Bei der offenbar von Jahr zu Jahr und Gegend zu Gegend stark schwankenden Giftigkeit des Mutterkorns[1]) ist eine absolute Grenze nicht anzugeben. Unbestreitbar wurden bei den meisten Mutterkornepidemien starke, ja sehr starke Mutterkorndosen mit der Nahrung einverleibt, die reiche Mutterkornliteratur, die kürzlich Krysinski[2]) bis auf die neueste Zeit zusammenstellte, enthält aber eine ganze Reihe acuter und chronischer Vergiftungen durch ganz bescheidene Mengen. Hartwig sah 1822 durch einmalige Verabreichung von 8—10 g kräftige Vergiftung, auch 4 bis 5 g hatten schon ähnliche Wirkung. ½ Drachme (d. h. knapp 2 g), ja ⅛ Drachme (!?) erzeugten, zu Brot verbacken, schwere Störungen. Uberti gab gesunden Gefangenen mehrere Tage 1 g Mutterkorn täglich; Mattigkeit, Magenschmerzen, Schwindel, Leibschmerz waren die Folge. 1 Monat lange Darreichung von 0,2 g machte bei einer Frau von 25 Jahren

1) Ich habe bereits in meinen Methoden der praktischen Hygiene (Bergmann, Wiesbaden 1890) mitgetheilt, dass mir mehrfach von absolut zuverlässigen Leuten versichert wurde, dass sie als Knaben auf dem Felde Mutterkorn als kindliche Delicatesse zu verspeisen pflegten. Ein weiterer Bekannter glaubt die Menge der dabei gegessenen Körner auf 40—60 pro die anschlagen zu können, was etwa 6—9 g entspricht. Nach Kobert ist die Giftigkeit des Mutterkorns kurz vor und bald nach der Ernte sogar am grössten.

2) Krysinski, Pathalogische und kritische Beiträge zur Mutterkornfrage. Jena, 1888.

zwei Monate später (!) Gangrän der Extremitäten, und solcher merkwürdigen Fälle sind (Krysinski p. 57) noch mehrere erwähnt.

Aber nicht nur bei absichtlichen Experimenten, auch bei Epidemien hat sich gezeigt, dass auch sehr kleine Mutterkornmengen, wenn sie nur eine Zeit lang genommen werden, bedeutende Gesundheitsschädigungen entfalten können, besonders beweisend erscheinen folgende hoch interessante Angaben von Dr. Joseph Mayer, Bezirksarzt in Roding. Derselbe beobachtete im Jahre 1867 in Katzenrohrbach (Bezirksamt Roding) in einer Familie vier, später im Ganzen noch 13 z. Th. schwere Fälle von Ergotismus convulsivus. »Bei allen erkrankten Familien wurde das Getreide, woraus sie ihr Brotmehl bereiten liessen, untersucht, und ich fand darin stets Mutterkorn, wenn dies auch manchmal nur $^1/_4$ oder $^1/_2$ % betragen mochte. Wo Getreide nicht oder nicht mehr vorhanden war, wurde das Mehl untersucht.« Apotheker Schmid in Regensburg, der eine solche Untersuchung vornahm, bestimmte — offenbar in ganz rationeller Weise — wie ausführlich mitgetheilt ist, im Mehle den Mutterkorngehalt colorimetrisch, indem er die Intensität der Rothfärbung beobachtete, die das fragliche Mehl und Controlmehle nach Erschöpfung mit heissem, schwefelsaurem Alkohol zeigten. Er fand so in einer Probe $1^1/_4$ bis $1^1/_2$ % Mutterkorn. Im Brote fand Schmid schon den qualitativen Nachweis schwierig, eine quantitative Bestimmung wurde nicht gemacht. Das Brot der Landleute in der betreffenden Gegend wird charakterisirt als: sehr schwarz, rauh und sauer und von Beimengungen des gröberen Mehles grob, feucht und unschmackhaft. Die Ernte fiel im Jahre 1867 schlecht aus, sodass die Leute beim Reinigen des Getreides nicht so gar ängstlich zu Werke gingen, und theils Mutterkorn, theils Samen von Gräsern in demselben verblieben, mit dem Getreide vermahlen und zu Brot verbacken wurden. Mutterkorn kam in diesem Jahre ziemlich häufig vor

1) Aerztliches Intelligenzblatt, München 1870, XVII. Jahrgang.

v. Franqué[1]) beobachtete in Nassau schwere, schon nach vier Tagen ausbrechende Kriebelkrankheit bei vier Mädchen, die mutterkornhaltiges Brot gegessen; eine Probe des Getreides, »die sehr verunreinigt war«, enthielt 3½% Mutterkorn. Reicht ein solcher Gehalt schon in vier Tagen hin, die Krankheit zum Ausbruch zu bringen, so ist es sehr wahrscheinlich, dass auch 1% bei etwas längerem Genuss die Erkrankung hervorgebracht hätte.

Nach diesen Angaben steht ohne Weiteres fest, dass wenigstens zwei von den sechs rheinischen Schrotbroten unter ungünstigen Verhältnissen entschieden eine Mutterkornvergiftung herbeizuführen im Stande waren. Brot 15 (Tabelle VII) bringt bei 750 g = 450 g Trockensubstanz täglich circa 4 g in den Körper, eine Menge, die als entschieden gefährlich erscheint. Nach den Beobachtungen von J. Mayer würde gegen Mutterkorn auch der Säuregehalt der Schwarzbrote nicht schützen.[2])

Das dürfte genügen. Ich glaube bewiesen zu haben, dass die fast durchweg ungenügend gereinigten Schrotbrote der norddeutschen Landbezirke nicht nur ekelhafte und minderwerthige, sondern auch intensiv giftige Bestandtheile in bedeutender, stellenweise in sehr bedenklicher Menge enthalten. Ich darf dabei nochmals daran erinnern, dass meine Methoden nur Minimalwerthe liefern, und keine das Resultat erhöhenden Fehlerquellen vorhanden sind.

Eine staatliche Beaufsichtigung des Brotes in den Schrotbrot consumirenden Landdistricten erscheint durchaus wünschens-

1) Die Kriebelkrankheit in Nassau 1855/56. Medicinisches Jahrbuch für das Herzogthum Nassau 1856.

2) Ich hätte gerne auch über die Veränderung der Giftigkeit des Mutterkorns durch die Brotsäuren einige Beiträge geliefert, muss dies aber verschieben, bis es mir einmal gelingt, wirklich giftiges Mutterkorn aufzutreiben. Jedenfalls vermindert Erhitzen und Verbacken zu Brot die Giftigkeit des Mutterkorns. Brei aus mutterkornhaltigem Getreide erwies sich oft als besonders gefährlich gegenüber dem Brot.

werth, vor Allem wäre aber durch Belehrung auf die Abscheidung der Unkräuter[1]) hinzuwirken. Auch wenn keine giftigen Unkräuter direct nachweisbar sind, ist ein Getreide oder Mehl mit mehr als 0,5% Unkraut als schlecht gereinigt zu beanstanden. Ein Radengehalt von 0,5% ab und ein Mutterkorngehalt von 0,2% ab lassen das Mehl als geeignet erscheinen, gelegentlich die menschliche Gesundheit zu beschädigen.

1) Nach einer Mittheilung meines Schüler's Welte wissen die Bauern in Brünnlingen im Badischen Schwarzwald nur, dass die Unkräuter das Brot schwarz machen und deshalb zu entfernen seien. Selbst die Giftigkeit vom Mutterkorn und Kornrade scheint unbekannt.

Anhang.

Uebersicht über die bisher ausgeführten deutschen Versuche über Ausnützung des Brotes ohne Zukost.

No.	Brotsorte	Bereitet aus:	Zermahlung, Ausmahlung	Säuregehalt des Brotes	Verlust bei Ausnützung ohne Abzug des Hungerkoths: Trockensubstanz	ohne: N	mit Abzug des Hungerkoths: Trockensubstanz	mit: N	Autor u. Publikationsstelle
1.	Semmel	Feinem Weizenmehl + Hefe	—	nicht sauer	5,6	19,9	2,6	12,8	G. Meyer Z. f. B. VIII
2.	Semmel	Feinem Weizenmehl + Hefe	—	nicht sauer	5,2	25,7	2,3	16,0	Rubner Z. f. B. XV
3.	Semmel	Feinem Weizenmehl + Hefe	—	nicht sauer	3,7	18,7	2,0	13,2	dto.
4.	Feines Weizenbrot	Feinstes engl. Weizenmehl + Presshefe	30 % Ausmahlung	nicht sauer	4,0	20,7	1,9	13,0	Rubner Z. f. B. XIX
5.	Mittleres Weizenbrot	kleiefreies englisches mittelfeines Weizenmehl + Presshefe	70 % Ausmahlung	nicht sauer	6,7	24,6	4,4	19,0	dto.
6.	Mittleres Roggenbrot	kleiefrei + Hersford-Liebigs Backpulver	—	wohl kaum sauer	11,5	32,4	8,5	24,0	G. Meyer Z. f. B. VII
7.	Münchner Graubrot	kleiefrei. Gröberes Weizen- u. Roggenmehl + Sauerteig	—	etwas sauer	10,1	22,2	7,0	15,2	Meyer
8.	Bayerisches schwarzes Landbrot	von grober Kleie frei + Sauerteig	—	kräftig sauer	15,0	32,2	13,4	26,3	Rubner Z. f. B. XV
9.	Englisches Brot aus Whole meal flour	Weizen decorticirt + Presshefe	ziemlich grob zermahlen 5 % Schälabfall	nicht sauer	12,2	30,5	10,0	24,9	Rubner Z. f. B. XIX
10.	Uhlhorns decorticirter Roggen	Roggen	5 % Schälabfall. 10 % blieben auf einem Sieb von 1 mm Maschenweite	nicht sauer	13,1	36,7	10,8	18,6	Wicke A. f. H. XIII
11.	Niederrheinisches Grobbrot	Roggen	Sehr grob zermahlen	nicht sauer	20,9	46,6	18,6	44	dto.
12.	Oldenburger Pumpernickel	Roggen + Kleie + Sauerteig	Sehr grob gemahlen	stark sauer	19,3	42,3	16,2	34,5	G. Meyer Z. f. B. VII

Nachträge zu meinen „Hygienischen Untersuchungen über Bleichromat".

Von

Prof. Dr. K. B. Lehmann.

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

In meiner ersten Mittheilung[1]) vertrat ich den Standpunkt, dass aus einer Reihe von Gründen die spärlichen Angaben der Literatur über acute Vergiftungen von Menschen durch sehr kleine Dosen von Bleichromat höchst wahrscheinlich auf einer falschen Deutung beruhten. An erwachsenen und halbwüchsigen Thieren und am erwachsenen Menschen war von mir und meinen Schülern die Unschädlichkeit einer einmaligen Einnahme von 0,05 bis 0,1 g absolut dargethan. Es blieb noch übrig, an jungen Thieren den Versuch zu wiederholen, da die acuten Bleichromatvergiftungen der Literatur meist Kinder betreffen.

Ich habe kürzlich an zwei jungen Katzen neue Vergiftungsversuche vorgenommen und im Einklang mit dem, was ich bemerkte, vollkommen negative Resultate erhalten.

Zwei junge Katzen vom gleichen Wurf, ca. 6 bis 7 Wochen alt, erhalten:

A. (650 g schwer) am 17., 18. und 19. Juni je 0,050 g Bleichromat mit Fleisch. Die Portion wird jedesmal rasch verzehrt, am 19. Abends ist das Thier absolut wohl und bleibt es die folgende, 8 Tage dauernde, Beobachtungszeit.

---

1) Arch. f. Hygiene, Bd. XVI.

B. (750 g schwer) am 17., 18. und 19. Juni täglich je 0,100 g Bleichromat mit Fleisch. Das Thier frisst das bleihaltige Futter etwas langsam, hat aber am Abend des 19. Alles verzehrt ohne irgend ein Krankheitssympton, bleibt auch die folgenden 8 Tage ganz wohl.

Diese Erfahrungen lassen mir die Fälle Dunin's, Falk's, v. Linstow's und Leopold's noch unwahrscheinlicher erscheinen als bisher — von den heftigen Vergiftungssymptomen hätte an den Kätzchen, da die Katzen für die chronische Bleichromatvergiftung so sehr empfänglich sind, doch irgend etwas beobachtet werden müssen, wenn, wie v. Linstow meint, 0,012 g Bleichromat zur tödlichen Vergiftung eines Kindes hinreicht. — Immerhin verzichte ich auch heute darauf, noch weiteres gegen diese Beobachtungen vorzubringen, konnte ich doch keine Versuche mit Kindern anstellen, und habe ich eine Reihe meiner Hauptbedenken das letztemal bereits geäussert. Auch stimmen neue casuistische Mittheilungen sehr gut zu meiner Auffassung der Giftigkeit des Bleichromats.

Zu meiner Freude haben nämlich inzwischen Herr Dr. Bernhard Schuchard zu Gotha und Dr. Hugo Wehling zu Ichtershausen dem Bleichromat eine längere Studie gewidmet [1]), in der sie eine Anzahl neuer Beobachtungen über chronische Bleichromat-Erkrankungen am Menschen berichten. Sie hatten in einer grösseren Anzahl von Fällen Gelegenheit, Arbeiter zu beobachten, die durch Abhobeln von mit Bleichromat gestrichenen Maassstäben erkrankten. Mindestens 6 Fälle haben sie selbst gesehen, Berichte über eine Reihe ganz ähnlicher Fälle verdanken sie den Mittheilungen der Herren Collegen Dr. Sinnhold und Lindener; die Fälle beweisen schlagend die Mög-

1) Das Chromblei in seiner hygienischen Bedeutung für die Industrie in der Festnummer der Correspondenzblätter des ärztlichen Vereins von Thüringen zur Feier des 25jährigen Bestehens des Vereins. Mai, 1898. — Neue Versuche enthält die Arbeit nicht, dagegen eine gute Literaturzusammenstellung, ziemlich ähnlich der von mir gegebenen. Interessant war mir, einige Angaben aus der mir unzugänglich gebliebenen Arbeit von Marshal (The therap. Gazette, Detroit 1888, XII, 3. Serie, IV) zu erfahren. Auch dieser Forscher hat Hunden wochenlang grosse Bleichromatdosen gegeben, ohne irgend welche acut entzündliche Erscheinungen.

lichkeit und stellenweise Häufigkeit der chronischen Bleichromatvergiftung. In all' diesen Fällen hat es sich um die Einathmung massenhaften Bleichromatstaubes gehandelt, der stellenweise geradezu die Haut der Arbeiter selbst an den bekleideten Körperstellen intensiv gelb färbte. Die Krankheitssymptome waren sehr ähnlich untereinander: Mattigkeit, Appetitlosigkeit, Schwindel, Respirationsbeschwerden fehlten kaum, Erbrechen war nicht selten, Kolik und Obstipation wurde öfters beobachtet. Bleisaum kam selten mehr als in Andeutungen zur Beobachtung, Bleilähmungen wurden keine beobachtet. Bei der Untersuchung fand sich meist: Belegte Zunge, Entzündung und Röthung der Mandeln, der Gaumenbögen und des Pharynx; Bronchialkatarrh. Die Arbeiter genasen meist nur langsam, ein Todesfall wurde nicht beobachtet.

Ich verkenne nicht, dass in diesen Beobachtungen vielfach wenigstens Andeutungen von einer ätzenden Wirkung: Röthung und leichte Entzündung der Mandeln und des Schlundes, berichtet sind, Wirkungen, von denen meine Thierversuche so gar nichts zeigten. Soll man es daraufhin doch für möglich halten, dass bei Kindern wirkliche Aetzwirkung durch den Genuss von einigen Milligramm zu Stande kommt, und dass am Ende v. Linstow und die oben genannten Aerzte doch recht haben?

Ich glaube, nein. Die Arbeiter erkrankten ganz langsam an leichten chronischen Schlundaffectionen, nachdem sie wochenlang Massen von Bleichromathaltigem Holzstaub geathmet — irgend welche Symptome von entzündlichen Magen- oder Darmaffectionen fehlen — da fällt es in der That ungeheuer schwer, sich vorzustellen, dass bei einem Kind einige Milligramme eine sehr schwere acute fieberhafte Entzündung des Rachens resp. des ganzen Verdauungskanals sollten hervorbringen können.

Ich habe inzwischen auch noch Gelegenheit gehabt, mich in der grössten existirenden Buntpapierfabrik (Aschaffenburg) sehr genau über die Verwendung des chromsauren Bleies in der Buntpapierindustrie zu erkundigen. Bleichromat findet demnach,

---

1) Hiermit stimmt, dass ich mit Herrn Dr. Schöppe in acht gelben Papieren nie Bleichromat finden konnte. Vergl. Arch. f. Hyg., XVI, S. 318.

wniegstens gegenwärtig, nie zum Färben gewöhnlicher Buntpapiersorten Verwendung [1]), sondern nur zur Herstellung gemusterter Papiere mit der chromolithographischen Presse. Die Farbe wird mit Firniss angerieben bezogen, kann durchaus nicht verstäuben, und die fertigen Papiere werden zudem noch — wie die meisten Buntpapiere — mit einem Schellacküberzug versehen und dadurch mit Wasser vollkommen abwaschbar gemacht.

Es ist somit weder für die Arbeiter noch die Consumenten dieser Papiere irgend eine Gefahr vorhanden, wenn erstere nur halbwegs sauber und sorgfältig mit der Farbe umgehen.

Es genügt also, wenn in Zukunft das Bleichromat zur Färbung von Gespinnsten und Geweben verboten wird; für Spielsachen und Papier reichen die bestehenden Vorschriften. Die Färbung von Maassstäben mit Bleichromat zu verbieten, halte ich nicht für absolut nöthig, haben doch Schuchardt und und Wohling in ihrer Arbeit beschrieben, wie die Einführung von Hobelmaschinen, Exhaustoren u. dgl. den Betrieb seiner Gesundheitsschädlichkeit entkleidete. Eher könnten allenfalls mit Chromgelb gefärbte Federhalter, wenn daran gekaut wird, die Gesundheit schädigen. Aber überall muss die Fabrikinspection Chromblei wie ein starkes Gift behandeln lehren, das namentlich nicht zur Verstäubung in den Arbeitsräumen gelangen darf. Ich wiederhole schliesslich meine Bitte, etwaige acute Bleichromatvergiftungen doch ja mitzutheilen, damit ein endgültiges Urtheil über die Möglichkeit der Richtigkeit der von mir angezweifelten Literaturnachrichten möglich wird.

Ueber die Menge flüchtiger Schwefelverbindungen in den festen Ausscheidungen.

Von

Dr. F. Niemann,

Assistenten am hygienischen Institute zu Berlin.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Bei den Untersuchungen über die Gährungsprocesse im Darmkanale der Fleischfresser ist bisher fast nur dem Auftreten von freiem Schwefelwasserstoff Beachtung geschenkt worden. Auch in der Arbeit von F. Müller über den normalen Koth der Fleischfresser finden sich nur Angaben über den Schwefelgehalt des Fleischkothes vom Hunde.

Da man nun in neuerer Zeit der Schwefelwasserstoff- und Mercaptanbildung bei den Bacterien erhöhtes Interesse zugewendet hat, und zum Theil gewiss auch mit Recht die pathogene Wirkung mancher Bacterien durch die Schwefelwasserstoffvergiftung complicirt glaubt, ist es von Interesse, eine Orientirung über die unter normalen Verhältnissen im Darme sich findenden Schwefelwasserstoffmengen zu erhalten, und so habe ich es auf Anregung des Herrn Professor Rubner unternommen, einige Schwefelwasserstoffbestimmungen im Fleischkothe des Hundes auszuführen. Zunächst kam es darauf an, festzustellen, wieviel Schwefelwasserstoff im Kothe des Hundes bei ausschliesslicher Fütterung mit einer bestimmten Quantität Fleisch gebunden wird. Wir hatten diese Fütterungsweise mit Eiweissstoffen von vornherein gewählt, weil sie ja unbedingt mehr Schwefelwasserstoff erwarten liess, als wenn eine andere Verköstigung des Thieres

1) Zeitschrift f. Biologie, Bd. XX, S. 327.

stattgefunden hätte. Ich habe diese Versuchsreihe für beendigt angesehen, als ich dauernd annähernd gleiche Werthe für den Schwefelwasserstoffgehalt des Koths erhielt. Da nun die Bindung des im Darme vorhandenen Schwefelwasserstoffes abhängig ist von allen dafür substitutionsfähigen Körpern organischer oder anorganischer Art im Kothe und somit die Schwefelwasserstoffaufnahme desselben eine beschränkte ist, setzte ich in einer weiteren Versuchsreihe dem als Futter gereichten Fleische eine bestimmte Menge Eisenoxydhydrat hinzu, welches ja im Kothe ohne wesentliche Verluste wiedererscheint und den letzteren geeigenschaftet machen sollte, grössere Mengen des den Darmgasen beigemengten Schwefelwasserstoffes zu binden.

Bei einer dritten Versuchsreihe fügte ich dem Fleische ausser dem Eisenoxydhydrat noch eine Reincultur von Bacillus proteus vulgaris hinzu, der die Fähigkeit besitzt, aus geeignetem schwefelhaltigen Material Schwefelwasserstoff und Mercaptan zu entwickeln; es musste sich in diesem Falle also, falls das gewünschte Material vorhanden und der Bacillus proteus zur Entwickelung seiner Thätigkeit im Darmtractus gekommen war, aus dem Kothe eine höhere Procentzahl für den Schwefelwasserstoff ergeben als in den beiden ersten Versuchen. Zu meinen Versuchen benützte ich einen ca. 10 kg schweren Pudel, dem ich während derselben täglich 500 g Fleisch reichte, und zwar solches, welches sorgfältig von Knochen, Sehnen und Fett befreit und in kleine Stücke geschnitten war. Zur Abgrenzung des Kothes gab ich dem Hunde vor Beginn und nach Beendigung des Versuches eine beliebige Menge von kleingehackten Knochen. Die Trennung des Fleischkothes von dem Knochenkothe lässt sich bei einiger Aufmerksamkeit mit grösster Genauigkeit bewerkstelligen, wenn auch mitunter kleine Verschiebungen der beiden Kotharten in sich vorkommen, so ermöglichte es doch die Farbendifferenz und der Consistenzunterschied beider, mit Leichtigkeit den meist pechschwarzen Fleischkoth von dem gelbweissen, mörtelartig zusammenhaftenden Knochenkoth zu trennen. Sofort nach dem jedesmaligen Kothlassen wurde eine kleine Probe, 1 bis 1,5 g, desselben zur Wasserbestimmung abgenommen und die frische,

gesammte Kothmenge nach der Wägung in ein der Menge entsprechendes Kölbchen gebracht, das mit einem dreifach durchbohrten Kautschukstopfen versehen war.

In der ersten Oeffnung desselben befand sich ein mit einem Kühler in Verbindung stehendes Knierohr, in der zweiten Oeffnung sass ein Tropftrichter, der durch einen Hahn abschliessbar war, die dritte Durchbohrung schliesslich verband durch ein doppelt gebogenes Glasrohr den Kolben mit einer concentrirte Kalilauge enthaltenden Waschflasche. An den oben bereits erwähnten Kühler schloss sich zunächst eine doppelt tubulirte Woulf'sche Waschflasche, der dann eine ca. 200 ccm fassende Pettenkofer'sche Respirationsröhre folgte. Vermittelst einer Wasserstrahlpumpe konnte Luft durch den so zusammengestellten Apparat geleitet werden. Die Pettenkofer'sche Respirationsröhre wurde mit 150 ccm $^1/_5$ Normal-Jodlösung gefüllt, die gegen eine $^1/_5$ Normallösung von unterschwefligsaurem Natron eingestellt war. In dem Kolben wurde der frische Koth mit ca. 50 ccm Wasser zu einem dünnen Brei angerührt und dann der so vorbereitete und mit dem dreifach durchbohrten Stopfen versehene Kolben dem Apparate eingefügt. Jetzt liess ich vorsichtig Luft durch den Apparat streichen und regulirte die Thätigkeit der Wasserstrahlpumpe so, dass in einer Minute ca. 120—140 Blasen durch die Jodlösung gingen. Durch den verschliessbaren Trichter, der sich in dem Stopfen des Kolbens befand, liess ich nun nach und nach unter langsamem Erhitzen des Kolbens ca. 75 ccm 36procentige Salzsäure auf den Kothbrei fliessen und steigerte schliesslich die Erwärmung des Kothes bis zum Kochen. Die Flüssigkeit im Kolben erhielt ich so lange im Sieden, bis keine weitere Entfärbung der Jodlösung eintrat, trat vollständige Entfärbung der vorgelegten titrirten Lösung ein, so erneuerte ich dieselbe schnell. Das dem Kolben angeschlossene Waschfläschchen mit Kalilauge hatte den Zweck, das Eindringen von Schwefelwasserstoff mit der durchstreichenden Luft durch Absorption desselben zu verhindern. Versuche, welche ich mit Schwefelwasserstoffwasser von bekanntem Gehalt und abgewogener Menge von Schwefelkalium anstellte, fielen so günstig aus, dass

die zeitraubende ponderale Bestimmung als Bleisulfid gar nicht in Betracht gezogen wurde.

Durch die Jodtitrirung kann aber noch gleichzeitig ein anderer flüchtiger Körper, den ich nur qualitativ im Kothe constatirte, das Mercaptan, erkannt werden. Wie an anderer Stelle ausgeführt werden wird, lässt sich Mercaptan mit Jod titriren; doch dürfte in meinen Versuchen das Übergewicht weitaus auf Seite des SH_2 gelegen haben.

Versuchsreihe I.

Der Hund war bis zu der Zeit der Versuche mit gemischter Kost (Hundekuchen, Brod etc.) gefüttert worden. Er erhielt infolgedessen zunächst zur Fleischkothabgrenzung kleingeschlagene Knochen. Das dann gereichte, von Bindegewebe und Fett befreite und zerschnittene Fleisch war täglich frisch bezogenes Rindfleisch.

Datum	Gewicht des Hundes in g	Fleisch als Nahrung in g	Menge des frischen Kothes in g	Wassergehalt des Kothes %	H_2S im Kothe berechnet auf Trockensubstanz %
26. VIII. 92	9 850	Knochen	—	—	—
27. » »	9 850	500	—	—	—
28. » »	9 840	500	24,5	61,23	0,0748
29. » »	9 830	500	—	—	—
30. » »	9 830	500	29,0	73,41	0,0799
31. » »	9 830	500	—	—	—
1. IX. »	9 840	500	—	—	—
2. » »	9 840	500	25,5	59,65	0,0912
3. » »	9 840	500	—	—	—
4. » »	9 840	500	10,0	64,04	0,0840
5. » »	9 830	500	—	—	—
6. » »	9 830	500	—	—	—
7. » »	9 830	500	—	—	—
8. » »	9 830	500	27,5	62,25	0,0865
9. » »	9 830	500	—	—	—
10. » »	9 830	500	—	—	—
11. » »	9 820	500	21,0	66,39	0,0829
12. » »	9 820	500	—	—	—
13. » »	9 820	500	—	—	—
14. » »	9 820	500	15,0	65,27	0,0837
15. » »	9 820	Knochen	—	—	—
16. » »	9 820	Knochen	21,5	60,83	0,08070

Der Wassergehalt des Kothes betrug im Mittel 65 %, die Maximal- und Minimalwerthe waren folgende: 73,41 % und 59,65 %. Schwefelwasserstoff befand sich im Mittel 0,0829 % im Koth, die Maximal- und Minimalzahlen waren procentisch 0,0748 und 0,0912.

Versuchsreihe II.

Der Versuch wurde wie bei I angeordnet, nur wurde dem Fleische, welches gehackt war, noch frisch aus Eisenchlorid mit verdünnter Natronlauge gefälltes und gut ausgewaschenes Eisenoxydhydrat hinzugesetzt.

Datum	Gewicht des Hundes in g	Fleisch als Nahrung in g	Menge des frischen Kothes in g	Wassergehalt des Kothes %	H_2S im Kothe berechnet auf Trockensubstanz %	Eisenoxydhydrat, trocken in g
18. IX. 92	9 820	500	—	—	—	—
19. » »	9 820	500	—	—	—	0,5
20. » »	9 820	500	27,2	61,23	0,1184	0,5
21. » »	9 810	500	—	—	—	0,5
22. » »	9 810	500	18,3	59,23	0,1340	0,5
23. » »	9 820	500	—	—	—	0,5
24. » »	9 810	500	17,9	58,4	0,1290	1,0
25. » »	9 810	500	—	—	—	1,0
26. » »	9 800	500	23,0	67,2	0,130	1,0
27. » »	9 800	500	—	—	—	1,0
28. » »	9 800	500	—	—	—	0,5
29. » »	9 790	500	—	—	—	0,5
30. » »	9 780	500	—	—	—	0,5
1. X. »	9 875	500	—	—	—	0,5
2. » »	9 870	500	18,0	60,11	0,1395	0,5
3. » »	9 870	500	—	—	—	0,5
4. » »	9 870	500	—	—	—	0,5
5. » »	9 870	500	—	—	—	0,5
6. » »	9 870	500	—	—	—	0,5
7. » »	9 865	500	39,5	58,3	0,1425	0,5
8. » »	9 860	500	—	—	—	0,5
9. » »	9 860	Knochen	15,3	59,1	0,1326	—

Der Wassergehalt des Kothes unterschied sich bei dieser Veruchsserie mit 60,5 % im Mittel nicht wesentlich, — um 0,8 % — von der Durchschnittszahl des Wassergehaltes im Kothe bei der ersten Versuchsreihe. Der höchste Gehalt an Wasser

betrug 67,2 % und der niedrigste 58,3 %, Schwefelwasserstoff war im Mittel 0,1311 % im Kothe gebunden, also um 57,78 % mehr als bei den ersten Versuchen. Es geht hieraus deutlich hervor, dass durch Zusatz des Eisenoxydhydrates zum Fleische der Koth einen ganz erheblichen Zuwachs an Schwefelwasserstoff erfahren hatte.

Von dem Eisenoxydhydrat scheint ein Zusatz von 0,5 g vollkommen zur Schwefelwasserstoffbindung zu genügen, da der Zusatz von 1 g Eisenoxydhydrat, wie aus der Tabelle hervorgeht, keine höheren Werthe für den Schwefelwasserstoff ergeben hat. Wahrscheinlich wird die mit Hilfe des Eisenoxydhydrates aus den Darmgasen abgefangene Schwefelwasserstoffmenge noch nicht die Gesammtmenge des vorhandenen Gases dieser Art darstellen. Bekanntlich besitzt von allen im Darmtractus vorkommenden Gasen der Schwefelwasserstoff die grösste Diffusionsfähigkeit. Nach den Versuchen von Planer[1]) treten bei Hunden nach Injection von sehr verdünnten wässerigen Schwefelwasserstofflösungen in den Dickdarm Vergiftungserscheinungen auf. Er konnte im Blute der Hunde diffundirten Schwefelwasserstoff nachweisen, nicht aber in der exspirirten Luft, welch' letzteres jedoch W. Kühne gelang.

Versuchsreihe III.

Bei diesen Versuchen handelte es sich darum, festzustellen, wie viel Schwefelwasserstoff durch Bacillus proteus vulgaris aus den im Darmkanal vorhandenen, durch die Verdauungsenzyme und die Darmfäulnis noch nicht zerlegten schwefelhaltigen Körpern freigemacht und in statu nascendi an das beigemengte Eisenoxydhydrat gebunden werden konnte. Zu diesem Zwecke hatte ich mir in concentrirter Bouillon aus Fleischextract Culturen von Proteus angelegt, die schon nach 2—3 Tagen einen dicken Bodensatz in den mit der Nährbouillon gefüllten Kolben bildeten. Von diesem Bodensatze, der ausserordentlich reich an Bacterien war, habe ich jedesmal dem mit Eisenoxydhydrat ver-

1) Citirt bei Gorup-Besanetz, Lehrbuch d. physiol. Chemie (1867), S. 496.

setzten, gehackten Fleische 1 ccm beigemengt. Um das Absterben der Bacterien im Magen thunlichst zu verhindern, habe ich mit 15 % Sodalösung den Magensaft vermittelst Schlundsonde neutralisirt

Datum	Gewicht des Hundes in g	Fleisch als Nahrung in g	Menge des frischen Kothes in g	Wassergehalt des Kothes %	H_2S im Kothe, berechnet auf Trockensubstanz %	Eisenoxydhydrat, trocken in g	Bacterienmasse in ccm
15. X. 92	9 760	Knochen	—	—	—	—	—
16. » »	9 755	500	—	—	—	1,0	1
17. » »	9 750	500	36,0	79,23	0,1690	1,0	1
18. » »	9 750	500	—	—	—	1,0	1
19. » »	9 740	500	—	—	—	1,0	1
20. » »	9 740	—	—	—	—	—	—
21. » »	9 740	500	—	—	—	1,0	1
22. » »	9 740	—	25,5	64,91	0,1741	—	—
23. » »	9 740	500	—	—	—	1,0	1
24. » »	9 730	—	—	—	—	—	—
25. » »	9 730	500	—	—	—	0,5	1
26. » »	9 720	500	38,5	—	—	0,5	1
27. » »	9 720	—	—	82,03	0,1980	—	—
28. » »	9 720	500	—	—	—	0,5	1
29. » »	9 710	500	35,0	69,31	0,2114	0,5	1
30. » »	9 710	500	—	—	—	0,5	1
31. » »	9 710	—	—	—	—	—	—
1. XI. »	9 700	500	42,0	72,13	0,204	0,5	1
2. » »	9 690	500	—	—	—	0,5	1
3. » »	9 690	500	21,5	64,31	0,237	0,5	1
4. » »	9 680	—	—	—	—	—	—
5. » »	9 680	500	—	—	—	0,5	1
6. » »	9 680	—	—	—	—	—	—
7. » »	9 670	500	32,5	71,6	0,213	0,5	1
8. » »	9 660	500	—	—	—	0,5	1
9. » »	9 650	—	11,0	59,1	0,218	—	—

Infolge des Bacterienzusatzes zum Fleisch stellten sich bald bei dem Hunde Verdauungsstörungen ein, die auch das Allgemeinbefinden desselben ungemein beeinflussten.

Er frass nicht wie sonst täglich 500 g Fleisch vollkommen auf und war in den letzten Tagen überhaupt nicht mehr zu der Aufnahme von mit Bacterien durchmengtem Fleische zu bewegen. Da das mit Bakterienkultur vermischte Fleisch keine Veränderung des Geschmackes oder Geruches aufwies, so bleibt nur die Annahme,

dass das Wohlbefinden durch die von Proteus vulgaris erzeugten Umsetzungen des Nahrungsmaterials im Darmkanal gestört war. Ob frei werdender Schwefelwasserstoff oder andere Zersetzungsproducte die Ursache waren, liess sich nicht entscheiden, immerhin hätte die letztere Annahme Vieles für sich.

Der Wassergehalt des Kothes betrug im Mittel 70,32 %, 82,03 % und 59,1 % waren die Maximal- und Minimal-Zahlen. Schwefelwasserstoff enthielt der Koth auf Trockensubstanz gerechnet im Durchschnitt 0,203 %, in maximo 0,237 und in minimo 0,169. Die Durchschnittszahl für den im Koth gefundenen Schwefelwasserstoff ist in diesem Falle um 54,84 % grösser als die der zweiten Versuchsserie. Diese bedeutende Steigerung im Schwefelwasserstoffgehalt des Kothes sprach schon dafür, dass die eingebrachten Bacterien zur Entwickelung und erspriesslichen Wirkung gelangt waren, die des öfteren aus dem Kothe angelegten Gelatineplatten, auf denen B. proteus vulgaris in ungeheurer Zahl zur Entwickelung gelangte, bestätigten dies.

Nach den Untersuchungen von Prof. Rubner[1]) haben die Schwefelwasserstoff bildenden Bacterien, speciell B. proteus vulgaris, die Eigenthümlichkeit, nur den organischen Schwefel anzugreifen und in Schwefelwasserstoff umzusetzen, den Sulfatschwefel vermehren sie unter Umständen sogar. Es ist daher wohl mit Recht für die vorstehenden Versuche anzunehmen, dass der B. proteus innerhalb des thierischen Organismus diese Fähigkeit beibehalten und somit nur die organischen Schwefelverbindungen abgebaut hat. Nach F. Müller[2]) enthält der trockene Fleischkoth des Hundes 0,899 % S., also annähernd viermal so viel als mit Hülfe von Proteus vulgaris bei Gegenwart von Eisenoxydhydrat als Schwefelwasserstoff abspaltbar war, wobei noch in Betracht zu ziehen ist, dass ein Theil dieses Schwefelwasserstoffes auch hier wahrscheinlich von dem Eisenoxydhydrat den Darmgasen entzogen wurde.

Da von den leicht diffundirbaren schwefelsauren Salzen wohl kaum etwas in dem Kothe zurückgeblieben war, muss ent-

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XVI, S. 78.
2) Zeitschrift f. Biologie, Bd. XX. S. 327.

weder angenommen werden, dass der Rest der schwefelhaltigen Körper aus schwer löslichen Sulfaten und vielleicht von B. proteus vulgaris nicht angreifbaren organischen Schwefelverbindungen bestand, oder aber, dass die Zeit des Aufenthaltes im Darmkanale für die Bacterien nicht hinreichend war, um eine vollständige Abspaltung des organischen Schwefels als Schwefelwasserstoff zu ermöglichen.

Zum Schlusse möchte ich hier noch eine Tabelle, die absolute Menge des ausgeschiedenen Schwefelwasserstoffes veranschaulichend, wiedergeben.

	Reihe I. (19 Versuchstage)	Reihe II. (20 Versuchstage)	Reihe III. (24 Versuchstage)
Absolute Quantität H_2S in g .	0,1436	0,2111	0,4848
Auf einen Tag trifft H_2S in g .	0,0075	0,0105	0,0202

Auch aus dieser Zusammenstellung der absoluten Werthe des ausgeschiedenen Schwefelwasserstoffes ist die progressive Zunahme desselben bei den verschiedenen Versuchsreihen ohne weiteres ersichtlich.

Neben SH_2 entsteht im Darmkanal, wovon ich mich überzeugte, auch noch Mercaptan, wie oben schon mitgetheilt. Da Mercaptan aber von den Eisensalzen und Eisenoxydhydrat nicht gebunden wird, so dürfte wohl mit Recht die in Reihe II und III auftretende Vermehrung des SH_2 wesentlich auf diesen allein bezogen werden; recht nahe liegend wäre es dann die Symptome der Erkrankung auf das nicht Gebundene, das heisst die Mercaptane, zu beziehen.

Ueber die Abspaltung von Kohlensäure, Mercaptan und Schwefelwasserstoff beim Kochen einiger animalischen und vegetabilischen Nahrungsmittel.

Von

Dr. F. Niemann.

(Assistenten am Institut.)

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Merkwürdiger Weise sind die unangenehmen Dünste, welche sich hauptsächlich beim Kochen von Gemüsen in jeder Küche finden, oftmals weit über die Grenzen dieser hinaus sich unliebsam bemerkbar machen und den Wohnräumen stundenlang anhaften, noch nicht der Gegenstand einer näheren Untersuchung gewesen. Da nun in hygienischer Hinsicht gerade die Untersuchung auf Entwickelung von giftigen Gasen beim Kochen unserer Nahrungsmittel Interesse bietet, bin ich der Aufforderung meines verehrten Chefs, Herrn Prof. Rubner, einige Nahrungsmittel thierischer und pflanzlicher Herkunft daraufhin zu prüfen, nachgekommen. Wie Vorversuche gezeigt haben, kommen von schädlichen Gasen Kohlensäure, Mercaptane und Schwefelwasserstoff in Betracht. Um die Versuche den Kochverhältnissen der Küche möglichst ähnlich zu gestalten, habe ich von der zu untersuchenden Substanz jedesmal 500 g und das doppelte Quantum Wasser verwendet. Das Kochen der Nahrungsmittel wurde auf ca. 2 Stunden beschränkt. Der Gang der Untersuchung gestaltete sich nun so, dass zunächst 500 g der zu untersuchenden Substanz in gleich

zu beschreibender Weise quantitativ auf CO_2 geprüft wurde und hierauf ein gleiches Quantum zur gleichzeitigen Bestimmung von Mercaptan und Schwefelwasserstoff benutzt wurde. Alle drei Bestimmungen zu gleicher Zeit mit 500 g Substanz auszuführen, zeigte sich als unmöglich.

Zur Bestimmung der abspaltbaren Kohlensäure wurden von den zu untersuchenden, zerkleinerten Nahrungsmitteln 500 g in einen $2^1/_2$—3 Liter fassenden Kolben gebracht, 1000 g ausgekochtes, destillirtes Wasser hinzugegeben und der Kolben mit einem zweifach durchbohrten Stopfen fest verschlossen, in beiden Durchbohrungen des letzteren waren knieförmig gebogene Röhren gesteckt, von denen die eine mit einer Kalilauge enthaltenden Waschflasche in Verbindung stand, welche den Zweck hatte, die Kohlensäure der durch den Kolben zu leitenden atmosphärischen Luft zu absorbiren. Vermittelst Saugpumpe wurde 5—10 Minuten lang Luft durch den Kolben geleitet, so dass derselbe nur mit kohlensäure-freier Luft gefüllt war. Jetzt kam derselbe mit einem Kühler in Verbindung, dem sich eine Waschflasche und eine Pettenkofer'sche Respirationsröhre anschloss, die mit 200 ccm einer Barytlösung gefüllt war, welche im Liter ca. 10 g krystallisirtes Baryumhydrat und 0,5 g Chlorbaryum enthielt und gegen eine Oxalsäurelösung mit 2,8636 g krystallisirter Oxalsäure im Liter eingestellt war. Die Pettenkofer'sche Röhre wurde mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden und nun langsam ein Luftstrom durch den Apparat gesaugt, während der Kolben mit dem zu untersuchenden Nahrungsmittel 2 Stunden hindurch im Kochen erhalten wurde. Nach der Beendigung des Versuches wurde das Barytwasser aus der Pettenkofer'schen Röhre in eine Stöpselflasche gebracht und nach dem Absetzen des Niederschlages vom Baryumkarbonat mit der Oxalsäurelösung titrirt. Von dem luftdichten Verschluss des Apparates und der Abwesenheit von Kohlensäure in dem ausgekochten destillirten Wasser habe ich mich durch mehrere blinde Versuche überzeugt.

Zur quantitativen Bestimmung der Mercaptane und des Schwefelwasserstoffes wurde derselbe Apparat benutzt, nur dass statt des Barytwassers eine 3 proc. Quecksilbercyanidlösung zum

Abfangen der Gase benutzt wurde. Bei Anwesenheit von Mercaptan und Schwefelwasserstoff bildete sich bei manchen Nahrungsmitteln nach längerem Kochen ein grünlich-gelber Niederschlag in der Quecksilbercyanidlösung, der abfiltrirt und mit Wasser ausgewaschen wurde. Hierauf brachte ich ihn sammt dem Filter feucht in einen kleinen Kolben, der einen doppelt durchbohrten Stopfen trug und der dem oben beschriebenen Apparat angeschlossen wurde. Die vordere Waschflasche war in diesem Falle mit verdünnter Essigsäure zur Hälfte gefüllt und die Pettenkofer'sche Röhre enthielt 200 ccm einer 3 proc. Bleizuckerlösung, während nur langsam Luft durch den Apparat strich, goss ich durch das Trichterrohr, welches sich in der zweiten Durchbohrung des Stopfens vom kleinen Kolben befand, ca. 25—30 ccm 5 proc. Salzsäure und erhitzte dann langsam den Kolben bis zum Sieden. War in dem abfiltrirten Niederschlage Quecksilbermercaptid enthalten, so wurde jetzt durch die Einwirkung der verdünnten Salzsäure bei erhöhter Temperatur Mercaptan frei, gelangte in die Bleilösung und schied sich als eine schön gelbe Schicht von Bleimercaptid aus. Kamen nun keine gelben Blasen mehr, so wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und mit Alkohol und Aether vorgetrocknet, die letzten Spuren von Wasser wurden bei einer Temperatur von 45° verjagt und der Niederschlag dann gewogen.

Wenn die Reaction auf Bleizuckerlösung zweifelhaft geblieben war oder überhaupt nicht eintrat, so wurden nochmal 500 g in der vorerwähnten Weise gekocht und statt der Pettenkofer'schen Röhre, ein Peligot'sches Röhrchen angefügt, welches mit Isatinschwefelsäure gefüllt war.

Letztere wurde so bereitet, dass einige Krystalle Isatin in concentrirter Schwefelsäure aufgelöst wurden, bei Vorhandensein von selbst nur geringen Spuren Mercaptan färbt sich die braunrothe Flüssigkeit grasgrün, am deutlichsten ist die Reaction übrigens an der Eintrittsstelle der Gase in die Flüssigkeit zu sehen.

Den Schwefelwasserstoff schliesslich bestimmte ich quantitativ so, dass ich den zuvor zur Mercaptanabscheidung mit 5 proc.

Salzsäure behandelten Quecksilbercyanidniederschlag mit concentrirter Salzsäure versetzte und den frei werdenden Schwefelwasserstoff in der bekannten Weise in 5 proc. Bleizuckerlösung auffing. Allerdings ist diese Methode nicht ganz einwandsfrei, da gleichzeitig mit dem Schwefelwasserstoff auch Polysulfide frei werden, man erkennt diese an der rothen Farbe ihrer Bleiverbindung.

Aber einerseits ist die Menge derselben im Verhältnis zu allem frei werdenden Schwefelwasserstoff verschwindend klein und andererseits gibt es keine quantitative Trennungsmethode dieser beiden schwefelhaltigen Verbindungen. Bei mehreren Sehwefelwasserstoffbestimmungen habe ich mich auch einer 1/5 Normal-Jodlösung bedient, die gegen 1/5 Normal-Lösung von unterschwefligsaurem Natron eingestellt war. Die bei diesem Titrirungsverfahren erhaltenen Zahlen stimmten recht gut mit den ponderalen Bestimmungen überein.

Von den meisten der untersuchten Nahrungsmitteln habe ich Controllanalysen gemacht, gleichzeitig den Wassergehalt derselben bestimmt und die Durchschnittszahlen davon hier wiedergegeben. Dem Zwecke entsprechend habe ich die gefundenen Werthe für Kohlensäure, Mercaptan und Schwefelwasserstoff in absoluten Zahlen auf frische Substanz bezogen angegeben. Die Berechnung des Bleimercaptids auf Mercaptan war in allen Fällen (mit Ausnahme der Blumenkohls) deshalb nicht möglich, weil das gewonnene Material nicht ausreichte, um durch die Bleibestimmung zu ermitteln, ob es sich um Methylmercaptan als einen Thioalkohol der höheren Grenzkohlenwasserstoffe handelte, ich habe daher sämmtliche Mercaptanbestimmungen als Bleimercaptid angegeben. Höchstwahrscheinlich handelte es sich in den meisten Fällen um Methylmercaptan, welches auch im Blumenkohl nachgewiesen werden konnte, Farbe und Verhalten sprechen durchaus dafür, und es ist bis jetzt in thierischen und pflanzlichen Organismen nur Methylmercaptan aufgefunden worden. Im Methylbleimercaptid sind 68,77 % Pb vorhanden, der Bleigehalt der Aethylverbindung weicht wenig davon ab, er beträgt 62,91 %.

I. Vegetabilische Nahrungsmittel.

Name der untersuchten Substanz	Menge der frischen Substanz in g	Wassergehalt der Substanz %	CO_2 berechnet auf 500 g frische Substanz in g	H_2S berechnet auf frische Substanz in g	Mercaptan als Bleimercaptid auf frische Substanz in g
Wirsingkohl (Brassica oleracea capitata alba Al.)	500 500	88,45	0,139 0,121	0,125 0,148	0,034 0,029
Blumenkohl (Brassica oleracea var. botrytis L.)	500 500	91,23	0,112 0,128	0,142 0,160	0,157 0,168
Rosenkohl (Brassica oleracea var. gummifera Al.)	500 500	84,43	0,104 0,130	0,045 0,078	0,064 0,051
Rothkohl (Brassica olerac. var. rubra Al.)	500 500	88,64	0,126 0,133	0,058 0,069	Spur Spur
Weisskohl (Brassica oleracea capitata alba Al.)	500 500	89,47	0,145 0,129	0,123 0,114	0,069 0,073
Kohlrabi (Blätter und Stengel) (Brassica oleracea cauloropa)	500 500	88,46	0,123 0,136	0,043 0,056	Spur Spur
Teltower Rüben (Brassica rapa teltoviensis)	500 500	82,10	0,134 0,126	0,160 0,148	0,139 0,112
Rothe Rüben (Beta vulgaris condiva)	500 500	84,37	0,091 0,084	Spur Spur	— —
Mohrrüben (Daucus carota L.)	500 500	85,87	0,238 0,244	— —	— —
Grüne Bohnen (Phaseolus vulgaris L.)	500 500	84,81	0,206 0,194	— —	— —
Spargel (Asparagus officinalis L.)	250 250	91,64	0,178 0,189	Spur Spur	— —
Salat (Lactuca sativa viriceps L.)	500 500	93,89	0,177 0,168	— —	— —
Spinat (Spinacia oleracea)	500 500	87,43	0,139 0,147	— —	— —
Kartoffel (Solanum tuberosum)	500 500	73,65	0,194 0,208	— —	— —

Beständig tritt, wie die vorstehende Tabelle zeigt, bei den untersuchten wichtigsten vegetabilischen Nahrungsmitteln die Kohlensäure auf; der Quantität nach ist sie keinen sehr erheblichen Schwankungen unterworfen, wenn schon als Maximalzahl 0,244 g und 0,084 g als Minimalzahl für die in 500 g frischer Substanz enthaltene Menge gefunden wurde. Dies Auftreten der Kohlensäure beim Kochen der Gemüse lässt schliessen, dass in allen diesen aufgezählten Vegetabilien dieselben Quellen für die Abspaltung derselben

vorhanden sind. Ob diese Abspaltung von dem Pflanzenalbumin, den Kleberproteïnstoffen, sonstigen Stickstoffverbindungen, wie z. B. Asparagin, oder von den anorganischen kohlensauren Salzen infolge der Gegenwart der sich ja wie verdünnte Säuren verhaltenden Eiweissstoffen vollzieht, ist vorläufig noch nicht aufgeklärt, dass es die Eiweissstoffe als solche sind, ist unwahrscheinlich, da beim Kochen reiner Eiweisskörper CO_2-Abspaltung noch nicht beobachtet wurde. Auch das Asparagin kann keine hervorragende Rolle bei der CO_2-Abspaltung spielen, sonst hätte die CO_2-Zahl des viel Asparagin enthaltenden Spargels bedeutend höher ausfallen müssen. Weniger gleichmässig gestaltet sich das Auftreten von Schwefelwasserstoff, welches in den vorliegenden Fällen nur bei den Kohlarten quantitativ bestimmt werden konnte. Die Abstammung des beim Kochen der Vegetabilien entstehenden Schwefelwasserstoffes aus den Eiweisskörpern ist zweifellos, nur scheint einigen derselben eine besonders hervorragende Betheiligung bei diesem Process zuzuschreiben zu sein, und da es sich um einen Eiweisskörper handeln muss, den wir im thierischen Organismus vermissen, so ist es vielleicht gerechtfertigt, ihn in dem ja in vieler Hinsicht ein abweichendes Verhalten von den amorphen Eiweisskörpern zeigenden »krystallinischen Eiweiss« zu suchen. Dieser zuerst von Grübler[1]), später von H. Ritthausen[2]) gefundene Körper enthält bekanntlich doppelt soviel Schwefel als das amorphe Eiweiss, und es wäre ja denkbar, dass ein grösserer Theil desselben besonders lose gebunden ist und der Abspaltung desselben vom Molekül ein geringerer Widerstand entgegengesetzt wird als bei den amorphen Verbindungen. Interessant ist es übrigens, dass die Menge des abgeschiedenen Schwefelwasserstoffes durchaus nicht immer parallel geht mit der Menge des in der Substanz organisch gebundenen Schwefels.

Zur bessern Illustrirung dieser Verhältnisse will ich hier die für die Kohlarten gefundenen Schwefelwasserstoffwerthe procentisch auf frische Substanz, den von König[3]) angegebenen

1) Journal f. pract. Chemie, 1880, Bd. XXIII, S. 97.
2) Ebendaselbst, Bd. XXIII, S. 481.
3) König, Die menschlichen Nahrungs- und Genussmittel, Berlin 1893.

Zahlen für den organischen Schwefelgehalt derselben Gemüse, in einer kurzen Tabelle gegenüberstellen.

Name der Substanz	Schwefel organ. gebunden %	Schwefelwasserstoff %
Blumenkohl	0,084	0,0302
Rosenkohl .	0,138	0,0156
Wirsingkohl	0,070	0,0296
Weisskohl .	0,059	0,0246
Rothkohl .	0,062	0,0158

Das Mercaptan fand sich bei den Kochversuchen stets in Begleitung des Schwefelwasserstoffes, wenn auch stets in geringer Menge. Seine quantitative Bestimmung war nur bei einigen Kohlarten und den Teltower Rüben möglich. Infolge der Löslichkeit seiner Bleiverbindung in der zum Abfangen des Gases benützten 3proc. Bleizuckerlösung sind die in der Tabelle angegebenen Zahlen zu niedrig ausgefallen. Herr Professor Rubner hat jedoch eine Correctionstabelle für die Löslichkeitsverhältnisse des Bleimercaptids in der dreiproc. Bleizuckerlösung aufgestellt und war so liebenswürdig, die Correctur der gefundenen Bleimercaptidzahlen auszuführen:

Name der Substanz	Bleimercaptid vor d. Correctur (In 500 g frischer Substanz) g	Bleimercaptid nach der Correctur g
Blumenkohl	1. 0,157	1. 0,220
	2. 0,168	2. 0,237
Wirsingkohl	1. 0,034	1. 0,063
	2. 0,029	2. 0,058
Rosenkohl .	1. 0,064	1. 0,102
	2. 0,051	2. 0,085
Weisskohl .	1. 0,069	1. 0,108
	2. 0,073	2. 0,113
Teltower Rüben .	1. 0,139	1. 0,196
	2. 0,112	2. 0,162

Wie wichtig die Aufstellung einer solchen Correctionstabelle war, geht aus dem grossen Zuwachs des Bleimercaptids nach der Correctur hervor; alle bisher in der Literatur befindlichen Angaben über quantitative Bleibestimmungen sind, da uncorrigirt zu klein ausgefallen und können daher leicht Veranlassung zu Irrthümern geben.

Schon das gemeinsame Auftreten von Mercaptan und Schwefelwasserstoff lässt darauf schliessen, dass sie möglicherweise von ein und derselben Muttersubstanz abstammen. In der That findet man auch die Mercaptane bei allen Eiweisskörpern, wenn man tiefgreifende Zersetzungen derselben veranlasst, sei es durch Schmelzen mit Kali, sei es durch Verbrennen oder durch den Fäulnisprocess. Es ist uns bisher noch nicht gelungen, einen Eiweisskörper aus pflanzlichen Nahrungsmitteln zu isoliren, der beim Kochen mit Wasser Mercaptan abzuspalten im Stande war; es werden die Versuche nach dieser Richtung hin noch fortgesetzt.

II. Animalische Nahrungsmittel.

Name der untersuchten Substanz	Menge der frischen Substanz in g	Wassergehalt der Substanz in g	CO_2, berechnet auf 500 g frische Substanz in g	H_2S, berechnet auf frische Substanz in g	Mercaptan
Rindfleisch (mager)	500 500	74,10	0,0830 0,0910	— —	— —
Hammelfleisch (mager) . . .	500 500	64,29	0,102 0,096	— —	— —
Schweinefleisch (fett) . . .	500 500	55,34	0,124 0,135	— —	— —
Hühnerfleisch	500 500	72,39	0,126 0,130	— —	— —
Hecht (Esox lucius)	500 500	76,39	0,134 0,140	Spur Spur	— —
Lachs (Salmo salar)	500 500	66,51	0,122 0,116	— Spur?	— —
Häring (Clupea harengus) .	500 500	74,74	0,108 0,115	Spur Spur	— —
Schellfisch (Gadus aeglefinus)	500 500	76,01	0,095 0,108	0,021 0,032	Spur Spur
Dorsch (Gadus morrhua) . .	500 500	75,36	0,105 0,123	0,039 0,035	Spur Spur
Hummer (Fleisch) (Homarus vulgaris)	250 250	81,04	0,084 0,079	Spur Spur	— —
Flusskrebs (Fleisch) (Astacus fluviatilis)	250 250	80,56	0,079 0,092	Spur Spur	— —
Kuhmilch	500 500	86,21	0,134 0,129	— —	— —
Hühnereier	250	72,91	0,149	Spur	—

Wie bei den Vegetabilien, so ist auch bei den animalischen Nahrungsmitteln die Schwankung unter den Mengen der abspaltbaren Kohlensäure eine geringe. Die grösste Menge von Kohlensäure wurde abgespalten beim Kochen von Hühnereiern, die kleinste Quantität desselben Gases gab beim Kochen das Hummerfleisch ab. Der Vorgang der Abspaltung der Kohlensäure ist bei den thierischen Nahrungsmitteln vorläufig auch noch unaufgeklärt, doch scheint derselbe mit dem bei den Vegetabilien vor sich gehenden Process der Kohlensäureabspaltung vieles gemeinsam zu haben. Dass es sich auch hierbei um einen im thierischen Organismus, sowohl dem der Vertebraten als auch bei einigen Avertebraten gleichmässig vertheilten Körper oder vielleicht auch eine Körpergruppe handelt, geht schon aus den unter einander wenig differirenden Kohlensäurebefunden hervor.

Die Entwickelung von Schwefelwasserstoff und Mercaptan beim Kochen von Fleischarten scheint sich auf das Fleisch von kaltblütigen Vertebraten und einige Avertebraten zu beschränken. Bei meinen Untersuchungen habe ich nur bei Fisch- und Krebsfleisch Mercaptan und Schwefelwasserstoff durch Kochen abspalten können und ersteres nur in minimaler unwägbarer Menge. Aus den Hühnereiern gelang es, gleichfalls durch Kochen H_2S abzuspalten, wenn schon derselbe auch nicht quantitativ bestimmbar war. Es sei hierbei noch bemerkt, dass die Eier mit der Schale gekocht wurden und nur ein Theil des abgespaltenen Schwefels durch die Schale diffundirte. Nach den Untersuchungen von Rubner[1]) wird beim Kochen von Eiweiss eine beträchtliche Menge von Schwefelwasserstoff abgeschieden, der Dotter scheint bei dieser Abspaltung nur eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Die Abspaltung von Schwefelwasserstoff und Mercaptan erfolgt bei dem Fleische sicher aus den Eiweisskörpern. Auffallend erscheint es nun, dass das Fleisch von Säugethieren und Vögeln, trotzdem es im Eiweissgehalt den Kaltblütern nicht nachsteht, gekocht werden kann, ohne nachweisbare Mengen von Schwefelwasserstoff und Mercaptan abzuspalten, während unter den

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XVI, S. 59.

gleichen Verhältnissen das Fleisch einiger Fische nennenswerthe Mengen Schwefelwasserstoff und auch Mercaptan abspalten konnte. Vielleicht liesse sich diese Thatsache so erklären, dass infolge der höheren Körpertemperatur der Säugethiere und Vögel die Eiweissstoffe bis zu einem gewissen Grade resistenter gegen die Einwirkung von Wärme sind als die der Kaltblüter, speciell der Fische, deren Körperwärme sich ja nach der Temperatur des umgebenden Mediums richtet und mithin bei den Fischen durchschnittlich 20° weniger betragen wird als bei den Warmblütern. Diese Temperaturdifferenz würde einigermassen übereinstimmen mit der Wärmezunahme über 100° hinaus, bei welcher das Fleisch vom Rinde beginnt Schwefelwasserstoff abzugeben. Nach unsern Versuchen fängt diese Abspaltung von Schwefelwasserstoff aus Rindfleisch bei 130° an, allerdings muss das Fleisch längere Zeit bei dieser Temperatur gehalten werden. Dieses verschiedenartige Verhalten der genannten Fleischsorten gegenüber der Erwärmung auf 100° ist um so interessanter, als sich dieselben bei der Fäulnis ganz gleich verhalten und beide Arten reichlich Schwefelwasserstoff als auch Mercaptan abzuspalten im Stande sind.

Wenn auch die Mengenverhältnisse der beim Kochen von Nahrungsmitteln entweichenden schädlichen Gase derartige sind, dass sie bei dem Küchenbetriebe der Haushaltungen von Privatleuten in hygienischer Hinsicht nicht berücksichtigt zu werden brauchen, so nehmen sie doch bei den Betrieben in Hotel-, Cantinenküchen und ähnlichen Einrichtungen Beachtung in Anspruch; es wird in solchen Anstalten vor allen Dingen für eine gut geregelte Ventilation zu sorgen sein, die bisher wohl in nur zu zahlreichen Fällen sehr viel zu wünschen übrig lässt.

Ueber das Vorkommen von Mercaptan.

Nach gemeinsam mit Dr. F. Niemann und Dr. Stagnitta-Balistreri ausgeführten Versuchen.

Berichtet von

Prof. M. Rubner.

Einleitung.

Als flüchtiges schwefelhaltiges Zersetzungsproduct schwefelhaltiger organischer Stoffe, namentlich der Eiweissstoffe durch Lebewesen hat man bis jetzt fast ausschliesslich nur den Schwefelwasserstoff gekannt; während er seiner Menge nach betrachtet, unter den im Thierkörper verlaufenden Zersetzungsprocessen keine erhebliche Bedeutung zu besitzen scheint, tritt er bei den Umsetzungen faulenden Materiales durch Mikroorganismen ungleich bedeutungsvoller auf. Als man in neuerer Zeit systematisch auch solche Spaltpilze, welche an den specifischen Fäulnisprocessen ganz unbetheiligt sind, auf ihr Vermögen Schwefelwasserstoff zu erzeugen prüfte, zeigte sich dasselbe unter den Mikroorganismen recht weit verbreitet, wenn schon die Intensität eine sehr ungleiche ist. Pathogene und nicht pathogene Arten, Aëroben und Anaëroben fanden sich unter den Schwefelwasserstoffbildnern, an Stelle der Eiweissstoffe, genügen als Nährmaterial für solche Zersetzungen auch die Stoffe regressiver Metamorphose, wie die Extrakte animaler Nahrungsmittel.

Nicht alle schwefelhaltigen Nahrungsstoffe werden durch die Bacterien angegriffen; äussere Umstände, wie die Gegenwart des freien Sauerstoffs modificiren die Menge des nachweisbar

bleibenden Schwefelwasserstoffs. Unter manchen Bedingungen gedeihen die Bacterien auch ohne Erzeugung von Schwefelwasserstoff.

Stellt sonach der letztere ein nicht unwichtiges Glied in der Wanderung des Schwefels im Stoffwechsel der Bacterien dar, so ist er aber doch, wie man in der Neuzeit erkannt hat, keineswegs das einzige flüchtige S-haltige Product, welches durch bacterielle Zersetzungen erzeugt wird. Beobachtungen der letzten Jahre geben der Vermuthung Raum, dass man neben dem Schwefelwasserstoff sicherlich auch Methylmercaptan[1]) wird erwarten können. Unsere Erfahrungen über die Mercaptane sind aber noch wenig ausgedehnte, da man erst in der letzten Zeit sie in chemischer Hinsicht eingehender studirt und Methoden des Nachweises ausgearbeitet hat. Die Arbeiten von Clason, sowie Nenckis und seiner Schüler sind von förderndem Einfluss auf die Erkennung der Mercaptane gewesen.

Das Methylmercaptan zeichnet sich durch einen unangenehmen Geruch aus, der noch in grosser Verdünnung wahrgenommen wird. M. Nencki und N. Sieber[2]) haben ein Mercaptan gefunden, als sie die Gase auffingen, welche bact. liguefaciens magnus aus Eiweiss bei anaëroben Wachsthum bildete. Die zur Absorption benützte Kalikugel roch »nach faulem Kohl«, ein Geruch, der beim Ansäuern mit Essigsäure noch stärker wurde. Reactionen wiesen auf einen mercaptan-ähnlichen Körper hin; sie stellten denselben durch Anaërobe-Zersetzung von Fleisch mittels Emphysembacterien in grösseren Mengen her, isolirten denselben mittels Quecksilbercyanid und gewannen eine Bleiverbindung, deren Gehalt dem Methyl-Mercaptan entsprach $(CH_3S)_2$ Pb (= 68,76 % Pb.).

Bei der Zersetzung des Leimes durch das bact. liguef. magnus fand Leon Selitremy gleichfalls Methylmercaptan[3]).

---

1) Ein Theil der nachfolgenden Untersuchungen wurde bereits in einer vorläufigen Mittheilung, s. hyg. Rundschau 1893, bekannt gegeben.

2) Monatshefte für Chemie, Bd. X, 1889, S. 526.

3) Dasselbe, Bd. X, 1889, S. 908.

Man hat Mercaptan durch Zerlegung frischer menschlicher Excremente erhalten[1]), ferner aus dem Harne nach Spargelgenuss[2]) und bei einem Patienten, der nach Pneumonie sich in Reconvalescenz befand[3]).

Die Mercaptane kommen also offenbar nicht ausschliesslich in künstlichen Culturen und Reinculturen zur Entwickelung, sondern auch in dem Bacteriengemische des Darmes und des Harnes. Wie das Vorkommen nach Spargelgenuss zu deuten ist, bleibt zunächst dahingestellt.

Der Schwefelstoffwechsel der Bacterien ist also ein recht mannigfacher; wir haben oxydative Vorgänge, Reduction von Sulfaten, die Schwefelwasserstoffbildung und Mercaptanbildung; indem sich die durch die Bacterien erregten Stoffwechselvorgänge in dem Darm der Thiere kombiniren mit den specifischen Zersetzungsproducten der letzteren gewinnen die Prodcte bacterieller Thätigkeit auch Interesse für die Lebensvorgänge und chemischen Umsetzungen des thierischen Organismus.

Bis jetzt scheint man nur dem Methylmercaptan begegnet zu sein, nicht aber dem etwas weniger flüchtigen Aethylmercaptan. C_2H_5SH.

Durch das Mercaptan werden die Wirkungen der flüchtigen Producte des Bacterienstoffwechsels modificirt; es ist ein giftiger Körper, dessen Einfluss auf den thierischen Organismus in Parallele zur SH_2-Vergiftung gestellt werden darf.

Als Quelle des Mercaptans scheint man auf Grund der bisher vorliegenden Untersuchungen das von den Bacterien zersetzte Grundmaterial, das Eiweiss, den Leim anzusehen; diesem Gedanken folgend hat man sich bemüht, die Möglichkeit einer derartigen Herkunft wahrcheinlich zu machen.

Man hat den künstlichen Abbau des Eiweisses, des Leimes auf chemischem Wege durchgeführt und nach den Mercaptanen gefahndet.

1) Leon Nencki, Monatsh. f. Chemie, Bd. X, 1889, S. 862.
2) M. Nencki, Archiv f. exp. Pathol. etc., 1891, Bd. XXVIII.
3) J. P. Karpus, Archiv f. pathol. Anat. u. Physiol., Bd. CXXXI, Heft 2, 1893.

Schon seit langem weiss man, dass die Eiweissstoffe beim Schmelzen mit Kali in fast die nämlichen Endproducte zerfallen wie bei der Fäulnis. Schon Liebig hat diese Methode des Abbaues der Eiweissstoffe benützt. Beim Schmelzen von Fibrin, Albumin, Caseïn mit Kali entweicht viel Ammoniak neben Pyrrol und organischen Basen und Wasserstoff unter Aufhellung der Schmelze. In letzterer findet sich Indol, Skatol, Phenol, Leucin, Tyrosin, Buttersäure, Essigsäure, Valeriansäure. Die fetten Säuren sind Spaltungsproducte des Leucin, das Phenol ein Spaltungsproduct des Tyrosins.

Man hat vielfach solche Schmelzungen auf freiem Feuer ausgeführt; Sieber und Schoubenko[1]) haben im Paraffinbade bei 250—280° geschmolzen. Bei diesem Verfahren gelang es ihnen, neben SH_2 reichlich $CH_3 SH$ aus der Schmelze zu gewinnen. So gross nun auch die Analogie zwischen Fäulnisprocess und Schmelzen mit Kali sein mag, man wird nie vergessen dürfen, dass volle Identität der beiden Prozesse doch nicht zu erweisen ist.

Die von Sieber und Schoubenko gewonnene Menge Mercaptan waren bei den einzelnen Substanzen sehr verschieden, immer aber war mehr Mercaptan als Schwefelwasserstoff vorhanden.

Das Methylmercaptan hat man bis jetzt nur in verhältnismässig wenigen Fällen künstlicher und natürlicher Zerlegung von eiweissartigen oder eiweisshaltigem Material gefunden, eingehendere und vielfältigere Untersuchungen werden die Verbreitung dieses interessanten Körpers darthun müssen und zu zeigen haben, ob demselben eine ähnliche Verbreitung und Dignität wie dem Schwefelwasserstoff zuzuerkennen ist.

Wir haben schon oben den penetranten Geruch des Methylmercaptans (eine Reihe anderer Mercaptane verhalten sich ebenso) hervorgehoben. Fischer und Penzoldt schätzen die Wahrnehmbarkeit des Mercaptans auf $^1/_{460000000}$ mg. Es kann befremdend erscheinen, dass man nicht mittels des Geruchsinnes das Methylmercaptan vielfach wahrgenommen hat; aus dem Mangel der empirischen Beobachtung auf das beschränkte Vorkommen des Mercaptans zu schliessen, wäre unseres Erachtens

1) a. a. O.

aber wenig angebracht. Wir haben beobachtet, dass der Geruch des Methyl- wie Aethylmercaptans leicht durch andere riechende Stoffe verdeckt, oder das Urtheil des Geruchsinnes unsicher gemacht wird. Grosse Dosen werden oft durchaus nicht so unangenehm empfunden, weil sich die Mercaptane ähnlich dem SH_2, von dem man bei grösseren Dosen eine Lähmung des nerv. olfactorius annimmt, verhalten.

Man wird also hoffen dürfen, den Mercaptanen, trotz der negativen Geruchprobe, mehrfach bei den Processen der Zersetzung durch Bacterien zu begegnen.

Es kann nicht Aufgabe der Forschung sein, den noch vielfach unklaren bacteriellen Umsetzungen in erster Linie nachzugehen und nach dem Vorkommen von Mercaptanen in irgendwelchen Bacterienculturen zu suchen, vielmehr ist als nächstes Ziel das Studium der Eigenschaften der Mercaptane und ihrer Herkunft in chemischer Hinsicht ins Auge zu fassen. Bis jetzt wissen wir nur, dass man beim Schmelzen mit Kali aus Fibrin, Hühnereiweiss, Glutin und Leim Methylmercaptan erhalten kann; es muss daher wünschenswerth erscheinen, in grösserem Umfange bei den menschlichen Nahrungsmitteln und allen jenen Stoffen, welche zur Bacteriennahrung dienen können, die chemische Möglichkeit der Abspaltung von Mercaptangruppen zu erweisen; es wird dargethan werden müssen, ob denn die verschiedenartigen Stoffe gleich reich an solchen Mercaptangruppen sind. Im Grossen und Ganzen wird also das Schwergewicht der Untersuchung auf die quantitative Bestimmung der Mercaptane zu legen sein; wir sind aber bei Ausführung unseres Unternehmens auf manche Schwierigkeiten gestossen, welche zunächst mitgetheilt werden mögen.

Ueber die qualitativen Reactionen der Mercaptane.

Da wir uns vorgenommen hatten, in grossem Umfange das Material organischer Nahrungsstoffe und Nahrungsmittel auf die Möglichkeit der Abspaltung von Mercaptanen zu prüfen, mussten wir gewärtig sein, gelegentlich ausser dem Methylmercaptan auch einem anderen ähnlichen Körper zu begegnen. Wir haben uns daher mehrfach zunächst mit den Eigenschaften der reinen Körper

abgegeben, auch sonst gaben mancherlei Eigenthümlichkeiten, auf welche wir bei der Zerlegung der Schmelzen stiessen, uns den Anstoss, die qualitativen Reactionen der in Frage kommenden Körper näher zu untersuchen, um so mehr als die bis jetzt vorliegenden Publikationen diesen nicht unwichtigen Fragen nur wenig Aufmerksamkeit gewidmet haben.

Was in erster Linie das Methylmercaptan anlangt, so ist dasselbe, da es nach den Angaben von Clason bereits bei 5° siedet, bei gewöhnlicher Temperatur ein Gas und äusserst flüchtig. Uns standen zum Studium der Eigenschaften des Mercaptans theils Präparate von Dr. Schuchardt in Görlitz zur Verfügung, theils haben wir selbst nach den Angaben von Clason dasselbe bereitet. Das als Ausgangsmaterial dienende ätherschwefelsaure Kali erhält man als Handelsartikel, oder wir haben es aus Methylalkohol direct hergestellt.

Für mancherlei Reactionen eignet sich wegen der geringen Flüchtigkeit eine leicht alkalische Lösung, welche längere Zeit — mehrere Tage — ohne wesentliche Veränderung des Gehaltes an Mercaptan aufbewahrt werden kann. Natronlauge und das in einem Röhrchen eingeschmolzene Mercaptan wurden in einer Eissalzmischung stark gekühlt, dann gemischt; wobei sich die Flüssigkeit dunkel färbt und zumeist kleine Oeltröpfchen sich abscheiden. Die Lösung riecht mercaptanähnlich. Vermuthlich scheidet sich etwas Methylsulfid ab, das weit weniger flüchtig ist, als das Methylmercaptan; und auf dieses wird wohl auch der Geruch der alkalischen Lösungen zu beziehen sein. Mit etwa 0,5% Mercaptanlösungen lassen sich die qualitativen Reactionen gut ausführen.

Am häufigsten Verwendung hat bis jetzt die Bleiprobe gefunden. Leitet man mercaptanhaltige Dämpfe in Bleiessig oder Bleizucker, so entstehen citronengelbe Niederschläge. Bei sehr kleinen Mengen zeigen sich auf der Oberfläche der Bleilösung wohl auch spinnwebartige Ueberzüge, mit grossen Maschen, bei grösseren Mengen gelbe voluminöse Niederschläge. In einigen Fällen haben wir diese citronengelben Fällungen sich ausserordentlich lange halten sehen; zumeist aber wandelt sich der gelbe Niederschlag, in einen bräunlichen um, der aus Täfelchen

besteht. Die letzteren sind offenbar recht schwer, nehmen ein weit kleineres Volum ein als der citronengelbe Niederschlag und fallen deshalb rasch zu Boden.

Auch mit den alkalischen Mercaptanlösungen erhält man diesen Niederschlag.

Clason schildert das $(CH_3 S)_2 Pb$ Bleimercaptid als bestehend aus krystallinischen Tafeln; beim Erhitzen in Methylsulfid und S Pb zerfallend. Von Salzsäure und Schwefelsäure wird es leicht gespalten. In feuchtem Zustande gehe es in Methylsulfhydrat und Bleioxydhydrat über. Wir haben die bräunlich gefärbten Tafeln mehrfach analysirt und einen mit der Formel $(C_3 H S)_2 Pb$ übereinstimmenden Bleigehalt gefunden; wir sahen, dass das Bleimercaptid durch Kochen mit Wasser vollständig zerlegt werden kann. Man bedarf dazu keine Säure; hat man die Krystalle wasserfrei, so sind sie aber auch gegen Erwärmung sehr widerstandsfähig.

Die Schwärzung am Licht, wenigstens bei kurzer Einwirkung, haben wir nicht beobachtet.

In Wasser, Alkohol und Aether sind die Krystalle schwer löslich oder unlöslich und lassen sich also durch Extraction, namentlich durch die beiden letzten von Beimengungen befreien.

Behufs Feststellung der Krystallform des Methylmercaptides haben wir die in kleinen Röhrchen eingeschlossene Substanz in eine klare Lösung von Bleizucker in einen Mischkolben gebracht dann das Röhrchen zerbrochen und mit der Bleilösung geschüttelt. Zuerst entstand immer ein flockiger citronengelber Niederschlag, sehr voluminös, der dann bei einigem Schütteln zu einem bräunlichen, aus Krystallblättchen bestehenden, schwereren Niederschlag sich umwandelte.

Dieser Niederschlag zersetzt sich auch bei längerem Stehen nicht. Abfiltrirt behält er die gelbbraune Farbe, wird beim Auswaschen mit Alkohol um eine Nuance dunkler, beim Waschen mit Aether wieder citronengelb.

Ein solches Präparat von Bleimercaptid hat zur nachfolgenden Untersuchung über die Krystallform gedient, welche Herr Privatdocent Dr. Fock auszuführen die Freundlichkeit hatte.

Die Krystalle bilden dünne Blättchen von theils rechteckiger meist aber unregelmässiger Begrenzung. Die grösseren Individuen zeigen eine Länge bezw. Breite bis zu 4 mm, indessen konnten an diesen Gebilden keine Randflächen aufgefunden werden, so dass die Bestimmung der Winkel nicht durchführbar war. Im durchfallenden Lichte zeigen die Blätter eine grünlich gelbe Färbung und die Auslöschungsrichtung liegt parallel resp. senkrecht zu den Kanten der rechteckigen Begrenzung.

Daneben enthält das Präparat in ganz geringen Mengen stengelig faserige Gebilde.

Das Methylbleimercaptan gab 69,06 % Pb, berechnet 68,77 %. Bei einem anderen von Schuchardt in Görlitz bezogenen Präparate erhielten wir nach Umwandlung in die Bleiverbindung 69,40 % Pb statt 68,77. In allen Fällen haben wir das Blei als schwefelsaures Blei gewogen. Eine dritte Probe lieferte 68,70 statt 68,77 % Pb.

Wir haben bei einigen Proben von Methylmercaptan beobachtet, dass beim Zerbrechen des Gläschens in der Mischung mit dem Bleizucker ein momentan wieder verschwindender, an Menge unbeträchtlicher schwarzer Niederschlag entstand; wohl möglich, dass solche der Beachtung leicht entgehende Fällungen den Bleigehalt der ersten Proben etwas erhöht haben.

Nicht selten sind freilich grössere Mengen Schwefelwasserstoff und Polysulfide die Begleiter des Mercaptans. Der Niederschlag färbt sich dann mehr röthlich, röthlich-braun und hat namentlich die Tendenz, sich bald durch Zersetzung zu schwärzen. Wirken die Dämpfe des Mercaptans auf Bleipapier ein, so färbt es sich gelbbräunlich; diese Färbung geht aber verhältnismässig bald in Braun und Schwärzlich über. Wenn auch die fleckige Färbung und geringe Unterschiede der Farbennuancen vorliegen, kann man doch mittelst dieses Reagenzes einen Unterschied zwischen SH_2 und Mercaptan nicht bestimmt erkennen. Aus Kupfersulfat werden röthliche Flocken, welche auf der Oberfläche schwimmen, ausgeschieden, mit Wismuthsalz ein röthlichbrauner krystallinischer Niederschlag.

Auch mit Goldchlorid, Platinchlorid und Palladiumchlorid entstehen sofort Niederschläge, von denen der Platinniederschlag in Alkohol und Aether löslich ist.

Die Fällung mit $PdCl_2$ wird unterstützt durch Zusatz von etwas NO_3H, beim Erhitzen wird der Niederschlag heller, ziegelroth; keinenfalls darf die Flüssigkeit alkalisch reagiren, weil sonst Palladiumoxyd gefällt wird.

Nitroprussidnatrium verfärbt sich mit Mercaptan nicht, wohl aber erzeugt die alkalische Mercaptanlösung sofort die roth und violette Färbung.

Auf Eisensalze scheint Mercaptan nicht wie die Sulfide zu reagiren; organische Eisenverbindungen wie Eisensaccharat, essigsaures Eisen, ferner Eisenoxydhydrat wurden durch Mercaptan nicht verändert; mit Mercaptan geschütteltes Eisenoxydhydrat nimmt keinen Schwefel auf.

Eine sehr bequeme Reaktion auf Mercaptan liefert die Isatinschwefelsäure; es wird fein zerriebenes Isatin in concentrirter Schwefelsäure gelöst.

Befindet sich die zu prüfende mercaptanhaltige Luft unter einer Glocke, so kann man porösen Thon in Isatinschwefelsäure tauchen und unter die Glocke bringen. Bei Gegenwart von Mercaptan färbt sich die Thonplatte schön grasgrün.

Zumeist wird man wohl Gase durch das Reagens hindurchleiten. Die grüne Farbe erkennt man am besten an den Stellen, wo die Gase in die Flüssigkeit treten und die Flüssigkeit die Wandungen benetzt.

SH_2, Polysulfide, unterschwefligsaures Salz geben keine Verfärbung mit Isatinschwefelsäure; die Grünfärbung kommt aber nicht allein dem Methyl-, sodern auch dem Aethylmercaptan zu.

Am besten wird das auf Mercaptan zu prüfende Gas vorher getrocknet; hierzu eignet sich Chlorcalcium. Wir haben Chlorcalcium, welches mehrfach zum Trocknen Mercaptan haltender Gase benutzt worden war, auf Mercaptan untersucht und ein Zurückhalten der letzteren Substanz nicht darthun können.

Wendet man Chlorcalcium in U-Röhren, die mit Thonstückchen und Isatinschwefelsäure getränkt sind, zum Nachweis

von Mercaptan an, so färben sich die Thonstückchen grün verlieren aber später diese Farbe und werden graublau. Lässt man Thonstückchen in Isatinschwefelsäure liegen, ohne dass Mercaptan hinzukommt, so behalten sie ihre gelbröthliche Färbung bei.

Eine einfache Oberflächenvermehrung durch Aufsaugung der Isatinschwefelsäure mittelst Glasperlen bietet keine Vortheile für den Nachweis.

Aus der Isatinschwefelsäure war durch Verdünnen mit Wasser und Destilliren ein Theil des Mercaptans wieder zu gewinnen.

Was die Empfindlichkeit der Mercaptanproben anlangt, so fanden wir folgende Reihenfolge: Am wenigsten empfindlich ist concentrirte Bleizuckerlösung, dann folgt 3 %ige Bleizuckerlösung, dann Quecksilbercyanid mit etwas Salzsäure, Isatinschwefelsäure, Goldchlorid und Palladiumchlorid. Die beiden letzten waren 100 mal so empfindlich als die concentrirte Bleilösung.

Zur Prüfung der Empfindlichkeit bestimmten wir in einer Mercaptanlösung ihren Gehalt und setzten den Reagentien (je 5 ccm) so viel zu, bis eine deutliche Farbenveränderung oder ein Niederschlag auftrat.

Das Minimum der Reaktion war = 0,04 mg S = 0,06 mg CH_3SH. Die Emfindlichkeit bei Anwesenheit von der Luft beigemengtem Mercaptan haben wir nicht geprüft, doch dürfte dabei der Nachweis sicherlich nicht schwieriger sich gestalten.

Viele halten den Geruch des Methylmercaptans für so charakteristisch, dass man zum Nachweis keiner weiteren Beihülfe durch Reagentien bedürfe. Wir können diesen Standpunkt nicht theilen; es gehört zwar kein besonders empfindliches Geruchsorgan dazu, den Methylmercaptangeruch wahrzunehmen, das ist sicher; es gibt aber durchaus nicht wenige flüchtige S-haltige Körper, welche einen ähnlichen Geruch haben und dem Methylmercaptan beigemengt sein können oder den Geruch decken. Ich möchte hier nur auf das Methylsulfid, die Polysulfide, Mercaptane mehratomiger Alkohole hinweisen. Im Allgemeinen wird der Methylmercaptangeruch als Geruch nach faulem Kohl beschrieben, was wir für nicht zutreffend halten; eher kann man jenen der Aethylverbindung so bezeichnen.

Einige Mercaptanverbindungen mit Metallen mögen hier noch angereiht werden.

Die mittelst Palladiumchlorid gefällte Verbindung lieferte 35,2 % Pd, berechnet für $(CH_3S)_4$ Pd 36,16 %; die Goldverbindung gab 58,69 % Au, während $(CH_3S)_3$ Au 59,08 % forderte.

Das Aethylmercaptan verhält sich zu den verschiedenartigen Reagenten nicht wesentlich verschieden von der Methylverbindung. Die Reaktion mit Isatinschwefelsäure gibt eine schön grasgrüne Farbe, die gesättigter scheint, als jene durch Methylmercaptan erzeugte. Die Lösung in Natronlauge wird unter Erwärmung dunkel. Mit schwefelsaurem Kupfer gelbweisse Niederschläge, mit Palladiumchlorid, Goldchlorid, Platinchlorid entstehen gelbe bis braune, zum Theil sehr feinkörnige Fällungen, die wir nicht näher untersucht haben.

In Quecksilbercyanid geleitet, bildet sich ein kalkseifenartiger Niederschlag und hautartige Ablagerungen wie bei der Methyl verbindung. In concentrirtem Bleiacetat entsteht sofort ein citronengelber, flockiger, dann dunkelnder Niederschlag.

Zur Gewinnung einer grösseren Menge der Aethyl-Bleiverbindung wurde reines Aethylmercaptan in filtrirte Bleizuckerlösung gebracht und im Mischcylinder langsam abscheiden gelassen. Es wurden lange Nadeln erhalten, harte braungelbe Krystalle. Dieselben enthielten nach Dr. Niemann's Analyse: 63,14 % Pb, berechnet für $(C_2H_5S)_2$ Pb 62,91 %. Dieses Präparat diente auch zu der vom Herrn Privatdozenten Dr. Fock freundlichst ausgeführten Prüfung der Krystalle, welche ergab:

Krystallsystem: monosymmetrisch.

Die Krystalle sind prismatisch nach der Symmetrieaxe und bis zu 18 mm lang und 1/4 mm dick. Von Querflächen wurden beobachtet die Basis c $\{001\}$ 0P, das Orthopinakoid a $\{100\}$ $\infty P \infty$ und das hintere Hemidoma $r = \{\bar{1}01\} + P\infty$; Endflächen konnten nicht aufgefunden werden, so dass die Bestimmung der Constanten eine unvollständige bleibt.

Beobachtet:

$$a : c = (100) : (001) = 82^\circ 50'$$
$$a : r = (\bar{1}00) : (\bar{1}01) = 74^\circ\ 4'$$
$$r : c = (\bar{1}01) : (001) = 23^\circ\ 6'.$$

Die Krystalle besitzen ein blättrig faseriges Gefüge und zerfallen leicht in ein anscheinend graues Pulver, welches indessen die eigenthümliche blättrig faserige Structur bewahrt.

Auslöschungsrichtung des Lichtes parallel den Kanten der Querflächen.

Aus einem anderen Präparat hatten wir erhalten 63,41 % Pb, statt 62,91 %, was ausreichend übereinstimmt, aber wie bei der Methylverbindung gab die Analyse einen etwas höheren Werth. Wir glauben beobachtet zu haben, dass die Aethylverbindung schwerer von jeder Beimengung zu befreien ist als die Methylverbindung. Mehrfach zeigte sich beim Zerstossen der mit Mercaptan gefüllten Glasröhrchen in der Bleilösung momentan ein durch die ersten Gasblasen erzeugter schwärzlicher, alsbald durch die gelbe Fällung verdeckter Niederschlag.

Noch andere Mercaptane mit drei- und mehr-atomigen Alkoholen hier anzufügen, liegt kaum ein Grund vor, da für das natürliche Vorkommen solcher in unserer Umgebung kein Beweis vorliegt.

Die quantitative Bestimmung.

Bei Ausführung der Mercaptanbestimmungen sind weitaus grössere Schwierigkeiten zu überwinden, als es auf Grund der bis jetzt vorliegenden spärlichen Veröffentlichungen den Anschein hat. Wir haben viel Zeit und Mühe durch diesen Umstand verloren.

Das Prinzip der Methode: Auffangen der Gase, welche SH_2 und Mercaptan enthalten, in $Hg(CN)_2$, Zerlegen des Niederschlags mit ClH und Einleiten des freigemachten Mercaptans in Bleilösung ist einfach, aber nur unter ganz bestimmten Bedingungen, welche bis jetzt nie beachtet worden zu sein scheinen, erhält man brauchbare, quantitative Resultate.

Wir haben es uns angelegen sein lassen, die Methode auf ihre Genauigkeit zu prüfen, und glauben durch eine eingehendere Beschreibung anderen Experimentatoren die Arbeit zu erleichtern.

Was die vorbereitende Schmelzung von organischen Substanzen mit Kali anlangt, so möge Folgendes erwähnt sein:

Bei der Schmelzung der Substanz haben wir die von N. Sieber und Schoubenko angenommenen Versuchsbedingungen eingehalten und im Paraffinbade erhitzt; wir sind aber mit den Temperaturen nicht über 250° hinausgegangen, weil unsere Glasgefässe bei Ueberschreitung dieser Temperatur fast regelmässig zu Grunde gingen. Die Mischungsverhältnisse zwischen Substanz und und Kali waren anfänglich wechselnde; die Zersetzung verläuft glatt bei reichlichem Kaliüberschuss. Wir sind schliesslich bei dem Mischungsverhältniss 1 : 10 verblieben und haben uns überzeugt, dass dabei flüchtige Schwefelverbindungen aus der Schmelze nicht entweichen. Manche Substanzen setzten der Zerstörung oft einen ausserordentlichen Widerstand entgegen, so z. B. Eidotter, so dass wir in ³/₄—1 Stunden keine völlige Zerlegung der Masse erreichen konnten, weshalb die Zeit der Reaction verlängert werden musste.

Die Schmelzung verläuft anfänglich unter starker Bräunung der Substanz und Gasentwickelung (darunter viel NH_3), das Schäumen erfordert Aufmerksamkeit, endlich hellt sich die Masse auf, wird gelblich oder farblos.

Die erkaltete Schmelze wird sodann unter gelindem Erwärmen in Wasser gelöst und in den Zersetzungskolben, in welchem das Mercaptan frei gemacht werden soll, gebracht.

Als Zersetzungskolben diente ein geräumiger Rundkolben mit doppelt durchbohrtem Gummipfropfen als Verschluss; die eine Oeffnung war für den Hals des Trichters, die andere für eine gebegene Röhre, die zu einem Kühler führte, bestimmt. An das Kühlrohr schloss sich eine kleine etwa 250 ccm fassende Woulff'sche Flasche, um leicht zu condensirende Destillate aufzunehmen, und von hier gelangten die Gase nach einer Pettenkofer'schen Barytröhre.

Durch das ganze System der Glasgefässe wurde mittels einer Wasserstrahlpumpe ein langsamer Strom von Luft geleitet, während der Hahn des Scheidetrichters ganz oder zum Theil geöffnet blieb. Im Zersetzungskolben wurde soviel krystallisirte Oxalsäure mit etwas Wasser gebracht, als zur starken Ansäuerung der alkalischen Schmelze nöthig war; letztere wird sofort nach dem

Einfliessenlassen zerlegt, CO_2, SH_2, Mercaptan u. s. w. freigemacht und von dem Luftstrom weiter geführt.

Wir haben uns überzeugt, dass durch einfache Destillation, wie man sie mehrfach angewendet hat, in vielen Fällen nicht alles Mercaptan in die absorbirenden Vorlagen gebracht werden kann, sondern Verluste entstehen. Es empfiehlt sich auch nicht, das Quecksilbercyanid in Woulff'schen Flaschen oder Peligotröhren gefüllt zu verwenden; die Pettenkofer'sche Barytröhre — eine zweite Controlröhre dürfte durchweg bei richtiger Regelung des Luftstromes unnöthig sein — vollzieht die Absorption in durchaus befriedigender Weise.

Das angesäuerte Gemenge im Zersetzungskolben wird bis zum Kochen erhitzt; wenn aus dem Kolben das Mercaptan entwichen ist, findet man es häufig noch in der Woulff'schen Flasche. Wir liessen daher immer durch letztere auch nach dem Ablöschen der Flamme unter dem Zersetzungskolben noch Luft durchtreten. Die Prüfung des Destillates auf Mercaptan ist nicht zu unterlassen.

Wie oben schon angegeben, benützt man als Absorptionsmittel für das Mercaptan Quecksilbercyanid in gesättigter Lösung. Neben Mercaptan bleibt hier auch Schwefelwasserstoff zurück.

Wir haben mehrfach in den Zersetzungskolben die reinen bei der Mercaptanbestimmung in Frage kommenden Substanzen gebracht und die bei der Ueberleitung in Quecksilbercyanid auftretenden Veränderungen beobachtet.

Ist Methylmercaptan vorhanden, so sieht man sehr bald nach Beginn des Luftdurchleitens in der Quecksilbercyanidlösung eine weisse, höchst charakteristische Fällung auftreten. Die Luftblasen, welche die Absorptionsröhren durchsetzen, sind nicht kuglig, sondern abgeplattet, deformirt, länglich. Die weisse Fällung sieht kalkseifenähnlich aus und bleibt nach Durchwanderung der Röhren als Haut auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmen. Die einzelnen sich aneinander schiebenden Häute bilden Falten.

Bei dem Durchleiten der Gase, welche aus der Zerlegung der Kalischmelzen stammen, durch $Hg(CN)_2$ ergeben sich aber keine weissen Fällungen, sondern sehr verschiedene Ver-

färbungen, auf welche man bisher nicht weiter geachtet und welche man auch nicht näher zu erklären versucht hat.

Das Methylmercaptid besitzt, wie gesagt, eine rein weisse Farbe; bei allen Versuchen mit Kalischmelzen, die wir in so grosser Zahl angestellt haben, zeigte sich nie eine rein weisse Fällung; fast immer ist die Fällung citronengelb, selten grün, sehr selten auch schwarz, noch seltener weissgelb.

Recht auffallend war der citronengelbe Niederschlag auch bei Gasgemengen, bei welchen reichlich SH_2 vorhanden war, also eine schwarze Fällung erwartet werden durfte.

Beim directen Einleiten reinen SH_2 in $Hg(CN)_2$ entsteht sofort ein schwarzer Niederschlag, frisch bereitetes und käufliches Schwefelkalium in Lösung erzeugen schwarze Niederschläge, Methyl- und Aethylmercaptid vermögen solche Niederschläge nur wenig zu verdecken.

Destillirt man Schwefelkalium in dem zur Mercaptanbestimmung vorbereiteten Apparat, aber ohne Durchleiten von Luft, mit Oxalsäure, so entsteht ein schmutzig-grüner Niederschlag, während die gleiche Menge Schwefelkalium unter Durchleiten von Luft den schön gelben Niederschlag liefert. Der letztere wird aber auch aus Polysulfiden gewonnen. Der durch SH_2 erzeugte gelbe Niederschlag ist flockig und lagert sich leicht ab[1]).

Bei der Zerlegung der Kalischmelze nimmt das sich in der Vorlage ansammelnde Destillat je nach der Natur der zur Schmelzung verwendeten Substanz eine ungleiche Beschaffenheit an. Bisweilen bleibt es fast klar, oft ist es durch mit den Wasserdämpfen flüchtige Substanzen getrübt. Wir wollen hier an dieser Stelle nur die flüchtigen schwefelhaltigen Verbindungen noch kurz berühren.

Bei dem Schmelzen von Flanell war das Verhalten der Flüssigkeit in der Vorlage besonders bemerkenswerth; dieselbe

1) Bei den Gasen und Dämpfen, welche aus einer Faulflüssigkeit mit Oxalsäure freigemacht wurden, auch bei einigen Nahrungsmitteln, haben wir ausnahmsweise im Quecksilbercyanid schöne, rothe Niederschläge, deren Natur wir nicht festzustellen in der Lage waren, gewonnen. Diese Niederschläge stören den Mercaptannachweis nicht, weil sie durch verdünnte Salzsäure nicht gespalten werden.

erwies sich in hohem Grade milchig getrübt, wie in keinem andern Falle. Die Trübung nimmt nach kurzem Stehen eine gelbliche Farbe an wie Schwefel; sie löst sich beim Erwärmen leicht in Alkohol. Kochen mit alkalischer Bleilösung liefert S-Metall. Direct mit Blei geprüft fällt ein schön rother Niederschlag aus; nach mehreren Tagen klärt sich die Flüssigkeit und Schwefel hat sich an den Wandungen und dem Boden des Gefässes abgeschieden. Der rothe Bleiniederschlag wird nun nicht mehr erhalten. Aehnlich wie Flanell verhielt sich Blutserum.

Ein ähnlicher Bleiniederschlag wie bei den vorgenannten Destillaten wird auch erhalten, wenn man käufliches Schwefelkalium in verdünnter Lösung auf Blei wirken lässt. Dieses Präparat enthält, wie bekannt, nicht unerhebliche Mengen von Polysulfiden; wir haben uns eine Polysulfid haltige Lösung hergestellt; indem wir nach Berzelius kohlensaures Kali mit Schwefel schmolzen. Die Schmelze, in Wasser gelöst, liefert mit Blei einen rothbraunen Niederschlag.

Aehnlich verhielten sich Stoffe, welche nach den Angaben Liebig's bereitet waren. Die oben genannte Schmelze wurde einige Zeit mit S gekocht Die erhaltene rothgelbe, verdünnt rein gelbe Lösung der Polysulfide gab mit Blei einen blutrothen an Rhodaneisen erinnernden Niederschlag, der beim Kochen sich schwärzte.

Die Lösung erinnerte in ihren Eigenschaften sehr an jene, welche das Destillat von Blutserum oder Flanell angenommen hatte. Bringt man die Lösungen des Polysulfids direct in $Hg(CN)_2$, so entsteht sofort ein schwarzer Niederschlag; auch beim Ueberdestilliren desselben und Einleiten in $Hg(CN)_2$ entstand in zwei Versuchen nur ein schwarzer Niederschlag. Das Destillat war milchig getrübt und gab mit Bleilösung gelbbraune Fällung; es zeigte auch den für die Polysulfide oben genannter Herstellung charakteristischen Geruch.

Der Niederschlag, welcher beim Einleiten in $Hg(CN)_2$ entsteht, wurde mit verdünnter ClH zerlegt und die Gase in 3 proc. Bleilösung aufgefangen.

Wird nur sehr wenig ClH angewendet, so ist der Niederschlag beständig, bei mehr ClH entsteht ein röthlich-brauner Niederschlag, daneben scheint immer auch SH_2 vorhanden zu sein oder zu entstehen, da allmählich die Bleifällungen vollkommen schwarze Farbe annehmen. Es ist also gewiss, dass Polysulfide bei der Schmelzung schwefelhaltiger organischer Substanzen entstehen und dass sich solche in dem Quecksilberniederschlage finden können.

Die Analysen, welche man bisher in einigen Fällen ausgeführt hat, sprechen dafür, dass Methylmercaptan bei der Schmelzung mit Kali erhalten wird; da wir aber nicht im Voraus annehmen durften, überall auch Methylmercaptan zu treffen, so hatte es Interesse, auch noch einige Versuche über das Verhalten der Aethylverbindung anzustellen.

Wir haben ein von uns hergestelltes und ein Präparat von Dr. Schuchardt in Görlitz benützt. Bringt man die Aethylverbindung in den Zersetzungskolben, so geht — etwas langsamer als bei der Methylverbindung — das Mercaptan nach der Vorlage und Barytröhre und erzeugt dort die gleichen irregulären Blasen, kalkseifenartigen, weissen Häute und Falten wie die Methylverbindung; irgend ein Unterschied ist nicht aufzufinden.

Es wurde der Versuch gemacht, aus Amylalkohol in analogem Verfahren, wie es Clason für Methyl- und Aethylalkohol angegeben hat, ein Amylmercaptan zu erhalten. Das erhaltene Destillat war eine helle, etwas gelbliche Flüssigkeit mit stechendem eigenthümlichen Geruch, daneben anscheinend deutlicher Geruch nach Amylalkohol. Die Reactionen waren aber wesentlich andere als die des gleichzeitig geprüften Amylalkohols. Im $Hg(CN)_2$ entstand weisse, dann rasch gelbe, dann fuchsinrothe Fällung, Abscheidung rother Tropfen, dann Schwärzung. Die ganze Reihenfolge der Färbung war in ein Paar Minuten abgelaufen. Mit Palladiumchlorür rothbraune harzartige Fällung und Färbung der Flüssigkeit; in verdünntem Bleizucker rothe, dann braune und rasch schwarze Fällung; mit Isatinschwefelsäure rothe Färbung und Niederschlag.

Mit Oxalsäure destillirt und in $Hg(CN)_2$ geleitet, bildete sich bald nach Erreichung der Siedetemperatur eine gelbe, spinnwebartige Fällung, dann gelbliche Häute, welche sich allmählig röthen, dann mehr weissliche, hautartige Ausscheidungen, welche mit rother Sprenkelung gezeichnet sind. Die in der Vorlage sich sammelnde Flüssigkeit im Oeltröpfchen gab die gleichen Reactionen wie das angewendete Präparat.

Der ausgewaschene, dann mit ClH zerlegte Quecksilberniederschlag lieferte in 3% Bleilösung erst eine spinnwebartige schwimmende, gelbe Ausfällung, dann Häutchen, deren anfänglich gelbe Farbe in eine rothe — ähnlich dem Siegelwachs — übergeht und später einen braunen Ton annimmt.

Wir haben dann noch geprüft, ob zu erwarten ist, dass etwa entstehendes Methylsulfid die Beobachtungen beeinflusst. Acetonfreier Methylalkohol wurde in der von Clason beschriebenen Weise in methylschwefelsaures Kali verwandelt und mit halbgesättigtem Schwefelkali bei 40° destillirt. Die Flüssigkeit zeigte mit den in Frage kommenden Reagentien keine Veränderungen, welche auf eine Störung bei der Untersuchung auf Mercaptan schliessen lässt.

Mit Goldchlorid und Platinchlorid entstehen krystallinische, wohl charakterisirte Niederschläge. Krystalle mikroskopisch gut zu erkennen.

Der lange haftende Geruch, den die Kleidung, Bücher u. s. w. in Lokalen annehmen, in welchen mit Mercaptan gearbeitet wird, dürfte aller Wahrscheinlichkeit nach auf Methylsulfid zurückgeführt werden.

Wir haben schon eingangs erwähnt, dass die in dem Quecksilberniederschlag auftretenden Fällungsgemenge durch eine Säure, Salzsäure, getrennt wird; verdünnte Salzsäure greift wohl Quecksilbermercaptid, nicht aber das Schwefelquecksilber an. Zur Trennung benützten wir eine 3%ige ClH. In die Quecksilberniederschläge geht aber offenbar auch mitunter Polysulfid über, welches leichter zerleglich ist als das Schwefelquecksilber. Nimmt man successive stärkere Säure, so entsteht beim Einleiten der frei werdenden Gase in Bleilösung erst schön gelbes Bleimercaptid, später treten röthliche Flocken, welche unter dem Mikroskop rothbraun erscheinen, auf, endlich die schwarze Fällung. Die geringste Beimengung der rothbraunen Flocken erzeugt ein baldiges Nachdunkeln und Schwärzen des Niederschlags. Bei einigen vegetabilischen Substanzen (siehe unten) gelang es auch nicht bei Anwendung 1%iger ClH, die Bildung rothbrauner Flöckchen auszuschliessen.

Nach den obigen Mittheilungen ergibt sich, dass wenn in der Schmelze des Kalis neben dem Methylmercaptan noch Mercaptane anderer Alkoholradikale sich finden, dieselben mit in den Quecksilberniederschlag gelangen können, von wo sie durch Zerlegung und Einleiten in Bleilösung als Bleimercaptide gewonnen werden.

Zur Prüfung der Frage, ob nicht bei den einzelnen Operationen die Mercaptanbestimmung gewisse Verluste unvermeidlich sind, haben wir eine grössere Zahl von Controllbestimmungen ausgeführt.

In erster Linie ist es wichtig, reines Ausgangsmaterial zu gewinnen.

Wir haben uns einerseits alkalische Lösungen von Methylmercaptan hergestellt und deren Gehalt in gleich zu besprechender Weise festgesetzt, theils sind wir von gut charakterisirten Verbindungen, — der Palladium-, Gold- oder Bleiverbindung — ausgegangen. Zunächst bestimmten wir, ob das $Hg(CN)_2$ im Stande ist, quantitativ genau das Mercaptan zurückzuhalten, wenn es unter den von uns gewählten Bedingungen durch eine Barytröhre geleitet wird.

Zu diesen Proben verwendeten wir die alkalische Mercaptanlösung. Sie hält sich, wie schon erwähnt, einige Zeit auf ihrer Zusammensetzung, verliert aber allmählich an Gehalt, vermuthlich durch Zersetzung von Mercaptan in Methylsulfid.

Die Feststellung des Mercaptangehalts einer solchen Lösung versuchten wir auf mehrfachem Wege. Bei Bestimmung des Gehalts alkalischer Mercaptanlösungen an Mercaptan begegnet die übliche Methode der Schwefelbestimmung gewissen Schwierigkeiten. Wir haben aber gefunden, dass Mercaptane durch Jodlösung und Titration zu bestimmen sind. Leitet man Mercaptan führende Gase durch Jodlösung, so wird diese in ihrem Werthe verändert.

0,1270 g reines Bleimercaptid wurde mit 8 % Schwefelsäure zerlegt, durch Jodlösung ($^1/_{10}$ Normal) die Gase geleitet und mit unterschwefligsaurem Salz zurücktitrirt. Aus dem Verbrauch

an Jod berechneten sich 0,0134 g S, das Bleimercaptid enthielt aber 0,0269 g S, also wurden nur 50% erhalten. Dies zeigt, dass die Zerlegung durch Jod folgender Gleichung entspricht:

$$(CH_3SH)_2 + 2J = \begin{matrix} CH_3S_1 \\ CH_3S \end{matrix}\Big> + 2JH,$$

ca- $^1/_{10}$ Normaljodlösung bedeutet also dann nicht 1,67 mg S, sondern bei Anwendung von Mercaptan 3,34 mg S.

Mehrere Controllbestimmungen wurden in folgender Weise ausgeführt:

Eine alkalische Lösung von Methylmercaptan wurde durch Oxalsäure in einem kleinen Kolben zerlegt, auf Siedetemperatur erwärmt und die Gase durch einen langsamen Luftstrom in $^1/_{10}$ Jodlösung geleitet und mit unterschwefligsaurem Natron titrirt.

Von der gleichen Lösung wurde dann in einem grösseren Kolben zerlegt, durch einen Kühler nach einer kleinen Vorlage die Gase nach einer mit $Hg(CN)_2$ gefüllten »Barytröhre« geleitet, der Niederschlag dann abfiltrirt, mit ClH zersetzt und wieder in $^1/_{10}$ Jodlösung geleitet. Dabei wurde beobachtet:

	angewendet	enthält S	gefunden an S
$CH_3 . SH$			
1.	2 ccm	0,1080 g	0,1027 g
2.	2 „	0,0994 „	0,0991 „
C_2H_5SH			
3.	2 „	0,0425 „	0,0442 „
	Mittel:	**0,0833 g**	**0,0820 g.**

Das $Hg(CN)_2$ befriedigt also durch sein Absorptionsvermögen vollständig, indem wir fast die gesammte Quantität des verwendeten Mercaptans wiederfanden.

Weit weniger befriedigend fiel die Prüfung des Bleies als Absorptionsmittel für Mercaptan aus.

M. Nencki und N. Sieber bedienten sich einer 10%igen Bleilösung[1]); von Karpus[2]) wird eine 3%ige Bleilösung erwähnt.

1) a. a. O.
2) a. a. O.

Offenbar hat man der Bedeutung der Concentration der Lösungen bisher wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Wir haben uns überzeugt, dass der Werth der erhaltenen Resultate ganz und gar von der genauen Kenntniss der Concentration und der Flüssigkeitsmenge abhängig ist.

Die Bleilösungen, sei es Bleiessig oder Bleizucker, lösen Mercaptid oft in sehr erheblichem Maasse.

Lässt man reines Methylmercaptan in concentrirten Bleiessig einträufeln, so entsteht sofort ein schön gelber Niederschlag, der aber beim Umschütteln vollkommen verschwindet, durch Verdünnen mit Wasser nicht wieder auftritt. Bleimercaptid mit Bleiessig übergossen, löst sich in Bleiessig auf, nicht aber in der gleichen Menge von Wasser. Dasselbe Verhalten wie Bleiessig zeigt der Bleizucker.

Es wurde eine Mercaptanlösung (Methyl) hergestellt, indem 4 ccm reiner Mercaptan gemischt wurden mit 25 ccm einer starken Kalilauge. 1 ccm enthielt 0,0714 g S[1]) mittelst der Jodtitrirung gemessen; diese Lösung wurde auf das 50fache verdünnt, also 1 ccm = 0,00143 S[2]). Reaktion schwach alkalisch.

In gesättigter Bleizuckerlösung entstand ein schwacher, aber bleibend gelber Niederschlag, als 5,65 ccm obiger Mercaptanlösung beigefügt waren, in halbgesättigter Lösung nach Zusatz 4,35 ccm, in achtelgesättigter Lösung nach Zusatz 2,45 ccm.

In 3 % iger Lösung:

bei dem Vol. 20 ccm nach Zusatz von 0,70 ccm Mercaptanlösung
= für 10 ccm nach 0,35 ccm Zusatz,

bei dem Vol. 50 ccm nach Zusatz von 1,70 ccm Mercaptanlösung
= für 10 ccm nach 0,34 ccm Zusatz,

bei dem Vol. 60 ccm nach Zusatz von 2,10 ccm Mercaptanlösung
= für 10 ccm nach 0,35 ccm Zusatz.

Im Mittel würden also in einer 3 % igen, für 100 ccm Bleizucker 3,5 ccm Mercaptan erst einen bleibenden Niederschlag geben,

1) S als Mercaptan berechnet = 0,0357 S für SH_2.

2) Auf Mercaptan berechnet.

3) Die Verhältnisse bleiben ungeändert, wenn man auch die schwache Alkalilösung mit Essigsäure fast aufhebt.

$= 0{,}005$ g S $= 23{,}5$ g CH_3SPb entsprechend. So erheblich wird sich nun freilich bei der Ausführung der Methode der Fehler nicht gestalten, weil ja die Beurtheilung des eben beginnenden Niederschlags naturgemäss zu hohe Werthe geben muss und ferner bei einigem Stehen noch eine bessere Abscheidung eintritt.

Wir nehmen zunächst an, dass es sich um eine gewisse Löslichkeit des Bleimercaptids in Bleilösung handelt; doch wäre die etwaige Bildung von Bleiverbindungen, welche weniger Blei, als dem Mercaptid entspricht enthalten, von vorneherein nicht auszuschliessen. Es muss daher noch eine directe Prüfung vorgenommen werden.

Wir haben reines Methylmercaptan in einem Röhrchen eingeschmolzen, in eine 3 % ige Bleilösung gebracht, das Röhrchen zerbrochen und nun innig gemischt, Sofort entsteht ein citronengelber käsiger Niederschlag, welcher bei weiterem Schütteln in krystallinische Tafeln übergeht. Er wird dabei gelbbraun, schwer und setzt sich leicht auf dem Boden des Gefässes ab.

Abfiltrirt, wird er mit Wasser behandelt, bis alles Blei ausgewaschen, dann mit absolutem Alkohol, wobei er noch mehr sich bräunt, sodann mit wasserfreiem Aether. Bei letzterer Procedur wird er wieder hellgelb. Der Aether wurde an der Luft verdunsten lassen und dann der Niederschlag im Exsiccator getrocknet.

Er zeigt sich auch in der Wärme beständig, riecht nicht nach Mercaptan und behält die Farbe unverändert bis gegen 100°.

Die Bleibestimmung gab normalen Bleigehalt,

$$= \frac{CH_3S}{CH_3S} > Pb$$

entsprechend. Diese Substanz eignet sich vorzüglich zu weiteren Studien.

Wir brachten gewogene Mengen des Bleimercaptids in einen kleinen Kolben mit doppelter Durchbohrung. Die Substanz wurde in Wasser aufgeschwemmt, durch die eine Röhre der Durhbohrung verdünnte (8 % ige) Schwefelsäure eingegossen, die sich entwickelnden Gase strichen durch eine mit 200 ccm 3 %iger Bleilösung gefüllte Röhre. Die durch den Kolben streichende Luft wurde

mittelst Kalilauge von CO_2 befreit. Erst wird in der Kälte zerlegt, später erwärmt. Trotz der Flüchtigkeit des Mercaptans erhält man ohne Erwärmen keine völlige Austreibung des Mercaptans. Die Versuche wurden mehrfach wiederholt; wir haben in allen Fällen ein nicht unerhebliches Defizit zu verzeichnen gehabt. Folgendes sind die Mittelwerthe:

angewendete Bleimercaptid	gefunden	in %
0,2000 g	0,1428	71,4
0,1000 „	0,0636	63,6
0,0800 „	0,0437	54,3
0,0500 „	0,0239	47,7.

Je kleiner die Mengen, desto ungenauer die Bestimmung; je grösser, desto schärfer wird sie; aber auch bei 0,2 g fanden wir erst 71 % wieder.

Eine etwas grössere Ausbeute erhält man, wenn man weniger Bleilösung anwendet, als wir in zwei Versuchen nur 25 ccm Bleilösung, d. h. den achten Theil verwendeten, fand sich an Stelle der angewendeten 0,1121 g Bleimercaptid 0,0912 g, d. h. 81,3 % wieder.

Wir haben aber nie gewagt, so kleine Quantitäten Blei anzuwenden, weil die Gasblasen dann eine zu kurze Bleischicht zu durchwandern haben und nicht mit Bestimmtheit zur Absorption gelangen. Auch mit weiterer Verdünnung bis 1 % erhält man keinen nennenswerthen Gewinn an Bleimercaptid, oder doch nur für die kleinsten Quantitäten; es wurden erhalten
in 3 proc. Lösung 0,013 g, 0,027 g, 0,046 g (Vol. d. Bleilös. 30 ccm)
» 1 » » 0,015 g, 0,028 g, 0,046 g.

Wir würden also auf Grund der ebenberichteten Versuche bei der Anwendung einer 3 proc. Bleilösung bleiben; von dieser haben wir stets 200 ccm frisch filtrirt angewendet.

Wir haben den Versuch gemacht, einen Mercaptan-Goldsatz zu zerlegen und die Gase durch alkalisches Wasserstoffsuperoxyd zu leiten.

Dabei wird Mercaptan zu SO_4H_2 umgewandelt und kann als SO_4Ba bestimmt werden. Die Ergebnisse waren befriedigend.

Dagegen verlief ein Versuch, in Mercaptanlösungen durch Eintragen in alkalisches Wasserstoffsuperoxyd zu spalten, nicht zufriedenstellend. Doch wollen wir hier keinen entgültigen Entscheid über diese von uns versuchte Methode geben; möglicherweise benöthigt man zur Spaltung einen erheblichen Uebersschuss an Wasserstoffsuperoxyd.

Die Methode der Bleiabsorption hat den einen, nicht zu unterschätzenden Vortheil, dass man das Vorhandensein von Mercaptan an der charakteristischen Farbe der Bleiverbindung erkennt, dass man ferner beurtheilen kann, ob nicht bei der Zerlegung des $Hg(CN)_2$-Niederschlags ein Fehler sich einschleicht; endlich, dass man — geeignete Mengen des Bleiniederschlags vorausgesetzt — durch Bestimmen des Bleigehalts die Reinheit der Substanz feststellen kann.

Wenn man quantitative Bestimmungen der Mercaptane machen will, ist unbedingt die Angabe nothwendig, welche Concentration und welche Menge von Bleilösung Anwendung gefunden hat; ohne diese Vorbedingung haben Mercaptanbestimmungen keinen Werth. Um die Fehler durch die Löslichkeit des Bleimercaptids zu eliminiren, verfuhren wir so, dass wir überall eine Correctur für gelöstes Bleimercaptid eingeführt haben. Bei manchen anderen analytischen Methoden, bei der Harnsäurebestimmung, Magnesiabestimmung u. s. w. sind wir ja in einer ähnlichen Lage. Um die Rechnung zu vereinfachen, construirten wir eine graphische Darstellung der Löslichkeit des Mercaptans und ergänzten nach der Curve den fehlenden Antheil.

Die von andern Autoren bisher gemachten Angaben lassen leider nicht erkennen, wie weit ihre Ergebnisse corrigirt werden müssen.

Ueber die Natur der auftretenden Mercaptane.

Schon in ihrer ersten eingehenden Abhandlung über das Vorkommen von Mercaptanen haben Nencki und Sieber angeführt, dass das von ihnen gewonnene Bleisalz 68,539 % Pb

(berechnet 68,74 %) enthalten habe, somit als Methylverbindung anzusprechen sei. Leon Selitremy gibt an, bei der Zersetzung des Leimes 0,039 g eines Bleimercaptides, woraus 0,0399 g SO_4Pb entstanden, erhalten zu haben; dies entspräche 68,97 % Pb. Bei der ausserordentlich kleinen angewandten Bleimerkaptidmenge kommen die unvermeidlichen Fehler erheblich in Betracht.

Wir haben mehrfach, dort wo reichliche Mengen von Bleimercaptid erhalten wurden, die Bleiverbindungen analysirt und dabei gefunden:

1. Bleimercaptid aus Schweizerkäse gefunden: 69,70 %, berechnet 68,77 % Pb.

2. Bleimercaptid aus Limburgerkäse erhalten: gefunden 68,70 %, berechnet 68,77 % Pb.

3. Bleimercaptid aus reinem Caseïn: gefunden 68,41, statt 68,77 % Pb.

4. Bleimercaptid aus Gelatine: gefunden 68,66 %, Rechnung 68,77 % Pb.

5. Bleimercaptid aus Hühnereiweiss: gefunden 68,51 %, Rechnung 68,77/% Pb.

6. Bleimercaptid aus faulem Fleisch: gefunden 68,78 %, berechnet: 68,77 % Pb.

Aus diesen Bestimmungen ergibt sich mit aller Sicherheit, dass es sich überall, wo wir eine genauere Analyse anstellen konnten, überwiegend um Methylmercaptan gehandelt hat.[1])

Herr Privatdocent Dr. Fock hatte die Liebenswürdigkeit, einen Bleiniederschlag, den wir durch Einleiten mercaptanhaltender Gase aus Schweizerkäse gewonnen haben, eingehender mikroskopisch zu prüfen. Herr Dr. Fock berichtet darüber:

Das anscheinend einheitliche gelbliche Pulver enthält zwei verschiedene Körper. In weit überwiegender Menge besteht es — nach der mikroskopischen Untersuchung — aus kurzen Fasern

1) Beigemengte kleine Mengen von Aethylmercaptan sind wir freilich nicht in der Lage auf diesem Wege der Analyse zu erkennen.

und Nadeln von hellgelber Farbe, die vielfach zu Büscheln vereinigt sind, im Uebrigen aber durch keinerlei bestimmte Oberflächen - Begrenzung charakterisirt erscheinen. Die einzelnen Nadeln brechen das Licht doppelt, und die Auslöschungsrichtung entspricht der Längsachse.

Der zweite Körper ist nur in geringer Meuge vorhanden und besteht aus dünnen, gelben Tafeln von theils rechteckiger, theils unregelmässiger Begrenzung. Die Tafeln sind gleichfalls doppeltbrechend und scheinen mit dem Präparat von reinem Methylmercaptid identisch zu sein, zumal die Auslöschungsrichtung auch hier parallel bzw. senkrecht zu den Kanten des Rechteckes liegt.

Während also das Bleisalz aus reinem Methylmercaptan, der Hauptmasse nach, in kleinen doppeltbrechenden Tafeln und Blättchen, zum kleinsten Theil aber in faseriger Structur krystallisirte, verhält es sich hier gerade umgekehrt; Fasern und Nadeln überwiegen weitaus. Da die chemische Analyse in beiden Fällen (s. S 160) aber einen Bleigehalt, wie er dem Methylbleimercaptid zukömmt, ergeben hat, so bleibt nur die Annahme, dass die Methylbleiverbindung eine zweifache Krystallform besitzt.

Wenn wir im Folgenden von Meercaptan kurzweg sprechen, so dürfen wir, wo nichts Besonderes bemerkt wird, die Voraussetzung machen, dass Methylmercaptan gemeint sei.

Ueber die beim Schmelzen animaler Stoffe mit Kali auftretenden Mercaptanmengen.

Ueber den Effect der Schmelzung animaler Stoffe mit Kali liegen bis jetzt nur 4 Beobachtungen von N. Sieber und M. Schoubenko vor.

100 g trockenes Eieralbumin	lieferte	0,3548	CH_3SH
Glutin	»	0,1997	» »
Caseïn	»	0,0947	» »
Gelatine	»	0,0311	» »

daneben reichlich SH_2.

Die Ergebnisse zeigen somit einen wechselnden Befund, der vielleicht auf Grund des verschiedenen Schwefelgehalts und der ungleichen Bindung des Schwefels in den Eiweissstoffen und ihren Derivaten erwartet werden durfte. Doch besitzen wir von vornherein keine theoretische Handhabe, um bei verschiedenen Substanzen ein Bild des Reichthums an Mercaptangruppen zu entwerfen. Daher schien es uns von Werth einen Ueberblick über die Spaltbarkeit animaler Stoffe zu gewinnen. Wir werden in Folgendem zunächst die unmittelbaren Ergebnisse der Analyse, die gewogenen Mengen des Bleimercaptids anführen und daraus das Methylmercaptan berechnen. Unsere Analysen von Bleimercaptiden im Zusammenhang mit den von Nencki und seinen Schülern ausgeführten geben genügende Gewähr, dass neben Methylmercaptan Mercaptane mehratomiger Alkohole nicht abgespalten werden.

Ueber die analytischen Ergebnisse und die verwendeten Materialien sei kurz Folgendes erwähnt:

Hühnereiweiss. Eierweiss wird sorgfältig vom Dotter getrennt, im flachen Teller an der Luft getrocknet, dann bei 100° vom hygroskopischen Wasser befreit.

Die Quecksilbercyanidlösung färbt sich beim Durchleiten der Gase gelbgrün bis gelb.

20 g Eierweiss + 200 g Kali geben:

0,095 g Bleimercaptid.
0,096 »
0,095 »

Mittel 0,095 g.

Eidotter in ähnlicher Weise wie voriges Präparat gewonnen, ist schwer verbrennlich und muss mehrere Stunden im Paraffinbad belassen werden (nicht entfettet).

20 g Eidotter + 200 g Kali geben:

0,038
0,042 } 0,042 g Bleimercaptid.
0,046

Andere Probe 20,0 g + 200 Kali gab 0,031 g Bleimercaptid.

Caseïn, reine Substanz von Merk in Darmstadt. 20,0 g trocken geben:

0,0985
0,0935 } 0,0960 g Bleimercaptid.

Rindfleisch, mit der Schere von gröberem Bindegewebe befreit, desgl. von Fett, dann bei 100° getroknet und gepulvert. 20 g geben:

0,049
0,045 } 0,047 g Bleimercaptid.

Fettfreies, mit Aether extrahirtes Fleisch. 20 g geben mit 200 Kali geschmolzen:

0,077 0,069	} 0,073 g Bleimercaptid.

Eine andere Probe nicht entfettet 0,064 g.

Fischfleisch, alles wie oben behandelt, entfettet. Schellfisch, 20 g mit 200 Kali geschmolzen geben:

	0,110 0,098	} 0,104 g Bleimercaptid.
Dorsch lieferte	0,049 0,042	} 0,045 g im Mittel
Lachs »	0,035 0,039	} 0,037 » » »
Frosch »	0,034 0,038	} 0,036 » » »

Organe vom Rind werden vor der Schmelzung mit Aether entfettet, die Blutkörperchen ausgenommen.

Leber: 20 g liefern	0,053 0,054	} 0,054 g Bleimercaptid,
Milz » » »	0,041 0,044	} 0,043 » »
Niere » » »	0,039 0,045	} 0,042 » »
Gehirn » » »	0,037 0,029	} 0,031 » »
Blutkörperchen 20 g liefern	0,028 0,029	} 0,028 » »

Gelatine käufliche, für bacteriologische Zwecke benützt. Substanz lufttrocken verwendet.

20 g geben	0,0032 0,0042	} 0,0037 g Bleimercaptid.

Pepton, käufliches, lufttrocken, von Witte bezogen.

20 g geben	0,109	} 0,111 g Bleimercaptid.
» » »	0,113	
» » »	0,110	

Bluteiweiss. Käufliches Blutalbumin wurde getrocknet und so zur Schmelzung verwendet.

20 g geben	0,0725 g Bleimercaptid	} 0,0769 g im Mittel.
» » »	0,0795 » »	

Wolle. Wolle wird bereits durch Erhitzen mit Wasser gespalten. Es entwickelt sich reichlich SH_2; wir hielten es daher für wichtig, auch diesen Stoff auf die Abspaltung von Mercaptan zu untersuchen.

1. 20 g Flanell gaben nur qualitativ die Reaction mit Blei.
2. » » » » » » » » » »

Wiegbare Mengen von Bleimercaptid wurden nicht gewonnen. Ausserordentlich reich war die SH_2 Bildung. In der Vorlage destillirte ein Körper, welcher Aehnlichkeit mit den Polysulfiden besitzt.

Nach den vorstehend aufgeführten Analysen und deren Mittelwerthen lässt sich sodann auf Grund der Löslichkeit des Methylbleimercaptids in 3 proc. Bleilösung berechnen, wie viel im Ganzen Mercaptan vorhanden gewesen, um die wiegbar gefundene Bleiverbindung zu erzeugen. Diese durch Rechnung gefundene Zahl nenne ich den corrigirten Werth. Aus der Bleimercaptidverbindung lässt sich durch Multiplication mit 0,32 (0,3189) die Methylmercaptanmenge ableiten. Sie findet sich in Procent berechnet im letzten Stab.

Tabelle I.

Nr.	Substanz	Bleimercaptid gewogen	Bleimercaptid corrigirt	Auf 100 g Trocken-substanz	Methyl-mercaptan
1	Rindfleisch	0,073	0,113	0,565	0,181
2	Schellfisch	0,104	0,151	0,755	0,242
3	Dorsch	0,045	0,078	0,390	0,125
4	Lachs	0,037	0,067	0,335	0,107
5	Frosch	0,036	0,067	0,335	0,107
6	Leber	0,054	0,089	0,445	0,142
7	Milz	0,043	0,076	0,380	0,122
8	Niere	0,042	0,073	0,365	0,117
9	Hirn	0,031	0,063	0,315	0,101
10	Serum	0,077	0,116	0,580	0,186
11	Blutkörper	0,028	0,057	0,285	0,091
12	Eierweiss	0,095	0,141	0,710	0,127
13	Dotter[1]	0,042	0,073	0,365	0,117
14	Casein	0,095	0,142	0,710	0,227
15	Pepton	0,111	0,131	0,855	0,274
16	Gelatine	0,004	0,027	(0,135) 0,157[2]	0,050

1) Nicht entfettet.
2) Trocken.

Die Ergebnisse der Schmelzung lassen bei den verschiedenartigen Stoffen thierischer Herkunft also sehr ungleiche Mercaptanmengen auffinden; der verschiedene innere Aufbau in den Eiweissstoffen gibt sich also auch bei diesem etwas gewaltsamen Mittel der Spaltung zu erkennen.

Die Muskelsubstanz verschiedener Thiere, morphologisch fast nicht unterschieden, charakterisirt sich durch die Verschiedenheit der abspaltbaren Mercaptanmengen recht gut. Am reichsten an Mercaptangruppen waren die Schellfische, dann folgen Rindfleisch und Dorsch, am wenigsten trifft man bei Lachsfleisch und Froschfleisch. Bei den geringfügigen chemischen Mitteln zur Differenzirung der Muskelsubstanz verschiedener Thiere wird man der Mercaptanbestimmung eine nicht unwesentliche Bedeutung zuschreiben müssen.

Aber nicht nur an solchen Mercaptangruppen, welche durch die Schmelzung abzuspalten sind, zeichnen sich die Fleischsorten aus, wir müssen hier noch auf die interessanten Beobachtungen verweisen, welche von dem Einen von uns bereits a. a. O.[1]) beschrieben und mitgetheilt worden sind.

Unter den Organen des Rindes liefert der Muskel und das Serum am meisten Mercaptan; weniger Leber und Milz am wenigsten das Gehirn und die Blutkörperchen.

Bemerkenswerth erscheint der grosse Unterschied zwischen Blutkörperchen und Serum; lelzteres lieferte doppelt so viel Mercaptan als ersteres. Gewiss werden sich bei noch umfassenderen Versuchen vielleicht auch Schwankungen an Mercaptangehalt ergeben; aber so viel ist gewiss, dass die quantitative Feststellung des Mercaptangehalts eine werthvolle Bereicherung zur Charakterisirung thierischer Substanzen darstellt.

Das Eierweiss gehört zu den »mercaptanreichen« Körpern. Der Dotter enthält anscheinend weniger, weil er fettreich ist. Reines, entfettetes Caseïn erwies sich reich an Mercaptan und wurde noch übertroffen von dem Handels-Pepton; merk-

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XIX S. 126.

würdiger Weise gelang es uns nicht, aus getrockneten Fibrin genau bestimmbare Mercaptanmengen zu gewinnen; auch bei Wollflanell war der Versuch negativ ausgefallen.

Folgende Gruppirung der Stoffe kann noch von Interesse sein. Es lieferte:

Reines Caseïn . . .	0,710 % Bleimercaptid	= 0,227 % CH_3SH	
Eierweiss	0,710	»	= 0,227 »
Serum . , ...	0,580	»	= 0,186 »
Pepton Wittes . . .	0,855	»	= 0,274 »
Leim	0,157	»	= 0,050 »
Fibrin	Spuren		Spuren
Keratin	fast nichts		fast nichts.

Fleischextractivstoffe.

Nach den zahlreichen Untersuchungen, über welche in Vorstehendem berichtet worden ist, zeigte sich Mercaptan reichlich in den thierischen Substanzen.

Ausserordentlich reich an präformirten Mercaptangruppen erwies sich das Pepton. Aus alledem scheint hervorzugehen, dass es die Eiweissstoffe sind, welche Mercaptan liefern.

Wir haben uns aber davon überzeugt, dass auch bei Abwesenheit von Eiweiss oder eiweissartigen Stoffen aus N- und S-haltigem Material Mercaptan gebildet werden kann.

Wenn man den Liebig'schen Fleischextract, der frei von Leim und Peptonen ist, mit Kali schmilzt, erhält man erhebliche Quantitäten von Mercaptan. Den Impuls nach anderen Körpern als den Eiweissstoffen, als Mercaptanbildner zu finden, gaben uns Beobachtungen an Bacterien, welche in einfacher Bouillon Mercaptan erzeugten.

20 g Fleischextract, frisch, mit 200 g Kali gaben

0,057
0,048
0,052
00,46
} 0,051 g Bleimercaptid.

In ihren äusseren Eigenschaften stimmte die Bleiverbindung vollkommen mit der Methylverbindung überein.

0,051 g geben corrigirt 0,086 g Bleimercaptid = 0,430%, oder 0,138% CH_3SH

= 0,173% Trockensubstanz.

Die Menge des abspaltbaren Mercaptans ist also eine verhältnissmässig beträchtliche; inwieweit die Handelsproducte stets die gleichen Mengen Mercaptan abspalten lassen, ist schwer zu sagen. Die Herstellungsweise ist zwar in den Hauptzügen wohl übereinstimmend, allein die Art des Grundmaterials sowie die Art der Auslaugung der Organbestandtheile lassen Differenzen immerhin als möglich erscheinen; solche festzustellen, wird Aufgabe weiterer Untersuchung sein müssen.

Wenn nun auch aus Extractivstoffen Mercaptan erhalten wird, diese Extractivstoffe aber in animalischen Nahrungsmitteln überall neben den Eiweissstoffen eingelagert sind, so könnte man vermuthen, das aus animalischen Nahrungsmitteln erhaltene Mercaptan entstamme in manchen Fällen überhaupt nur den Extractivstoffen, nicht aber dem Eiweiss.

Wir sind in der Lage, mit Zugrundelegung unserer Analysen diese Frage zu beantworten.

Nach einer von mir ausgeführten Analyse [1]) geben 100 g trockenes Fleisch mit 2,23% Fett 17,39 g trockenen (Wasser-) Extract, 100 Theile fettfreien Fleisches also 17,7 Theile Extract (organisch + anorganisch).

Aus 100 Theilen trockenem fettfreiem Rindfleisch wurde erhalten	0,181 Mercapt.
17,7 Theile Fleischextract liefern	0,031 „
für 81,8 Theile trockenes aschefreies Eiweiss bleiben	0,150 Mercapt.
also 100 „ „ „ „	0,183 CH_3SH.

Die Rechnung ergibt mit aller Sicherheit, für das Muskelfleisch, dass nur etwa 1/6 der Gesammtmenge des durch Schmelzen mit Kali abspaltbaren Mercaptans auf die Fleischextractivstoffe fällt und 5/6 aus den Eiweissstoffen stammen müssen. Es ist im höchsten Grade wahrscheinlich, dass es sich bei den anderen animalischen ähnlich wie bei dem Fleisch verhalten wird.

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. XIX, S. 342.

Da uns für Fleisch die Menge der vorhandenen Eiweissstoffe näher bekannt ist, habe ich für 100 Theile aschefreies Eiweiss die durch Schmelzen zu gewinnende Mercaptanmenge berechnet, sie beträgt 0,183 Theile CH_3SH.

Die Umwandlung irgend eines Bestandtheiles des Fleischextractes zu Mercaptan steht sonach fest; auch später werden wir bei einer anderen Art der Zerlegung zeigen, dass Mercaptan aus Extract gewonnen werden kann.

Die eigentliche Quelle des Mercaptans haben wir mit Bestimmtheit noch nicht erweisen können; die versuchte Zerlegung des Extracts durch Behandlung mit Blei förderte keine eindeutigen Resultate. Da man an das Vorkommen von Taurin denken konnte, hatten wir einige Experimente mit Galle ausgeführt.

6 g getrocknete Galle mit 25 g Aetzkali geschmolzen und zerlegt gab deutliche Mercaptanreaction mit Isatinschwefelsäure, SH_2 ward keiner gebildet. Zweimalige Wiederholung des Versuchs zeigt dasselbe Ergebnis. Der in Alkohol unlösliche Antheil der Galle mit Kali geschmolzen gab keine Reaction auf Mercaptan.

Alkoholextract einer auswärtigen Gallenprobe (10 g + 100 Aetzkali) geschmolzen gibt Mercaptan und viel SH_2.

Mit Kalilauge gekocht, dann mit Oxalsäure zerlegt, kein Mercaptan, aber SH_2.

Gallensäuren (Taurin und Glycocholsäure) 3 g + 30 Aetzkali geschmolzen deutlich Mercaptan, Spuren von SH_2.

Wiederholt mit 5 g Galle dasselbe Resultat. Mit Kalilauge gekochte Gallensäuren gaben weder Mercaptan noch SH_2.

Bei einem später zu erwähnenden Versuche haben wir aus Galle in wiegbaren Mengen Mercaptan als Bleiverbindung erhalten. (Siehe unten).

Für eine Reihe von Substanzen, welche wir mit Kali geschmolzen haben, sind uns auch die Mengen des Gesammtschwefels bekannt, welche sie einschliessen, oder sie lassen sich nach den Analysen anderer Autoren ergänzen.

Um über den Antheil, welchen der in Form von Mercaptan abgespaltene Schwefel im Verhältnis zu dem gesammten S-Vorrath Einiges zu erfahren, habe ich nachstehend angegeben: 1. den

Gesammtschwefelgehalt der Trockensubstanz, 2. den S-Gehalt des Mercaptans (= $^2/_3$ des Mercaptans), 3. den Procentgehalt an S, der als Mercaptan abspaltbar ist.

	S-Gehalt im Ganzen	S im Mercaptan	%
Haare	5,00 [1])	Spuren	0
Fibrin [2])	1,20	„	0
Leim [3])	0,645	0,033	5,1
Eiweiss [3])	1,23	0,152	12,3
Serum [3])	1,453	0,124	8,5
Pepton [3])	1,426	0,182	12,8
Dotter [3])	0,384	0,078	20,3
Extract [4])	0,364	0,116	31,8

Das Mercaptan spaltet sich, auf gleichen S-Gehalt berechnet, aus den einzelnen Stoffen durch Schmelzen mit Kali bis 250° in sehr wechselnden Mengen ab. Gerade die S-reichsten Stoffe, die Haare liefern neben SH_2 nur Spuren von Mercaptan. Ungemein wenig gab Fibrin, obschon der S-Gehalt noch keineswegs als gering bezeichnet werden darf.

Die Gelatine schien nach den absoluten Werthen betrachtet ausserordentlich wenig Mercaptan zu liefern, es ist dies aber, wie man nach den relativen Werthen erkennt, nicht einmal zutreffend. Der Leim enthält zwar wenig Schwefel, spaltet aber doch nicht erheblich weniger ab als Blutserum.

Am reichsten an abspaltbaren Mercaptangruppen erscheinen Eidotter und Fleischextract, obschon die Menge des procentigen Schwefelgehalts bei beiden eine geringe ist.

Pflanzliche Nahrungsstoffe und Nahrungsmittel.

Nachdem wir mit aller Bestimmtheit gesehen haben, dass alle thierischen Nahrungsmittel Mercaptan beim Schmelzen mit Kali liefern, weil Mercaptangruppen im Eiweiss wie in den Ex-

1) Lär, Annal. d. Chem. u. Pharm, Bd. XLV, S. 174.
2) Pflüger's Archiv, Bd. XLIII, S. 244.
3) Archiv f. Hygiene, Bd. XVII ff.
4) Zeitschr. f. Biol. Bd. XIX l. c.

tractivstoffen vorhanden sind, war es naheliegend, dass man demselben auch bei den pflanzlichen Nahrungsmitteln überall begegnen werde. In qualitativen Vorproben sahen wir, dass Klebersubstanz und aus Erbsen dargestelltes Legumin Mercaptan liefern, im weiteren Verlauf der Untersuchungen gelang es, aus allen angewendeten Nahrungsmitteln Mercaptan zu erhalten.

Wir haben die Stoffe in absolut trockenem Zustande verwendet; frische Pflanzentheile wurden zuerst auf dem Wasserbad, später im Trockenschrank getrocknet; alle Substanzen wurden fein gepulvert.

Aleuronat. Präparat von Dr. Hundhausen in Hamm.
20 g mit 200 Kali geschmolzen gaben: 0,0225, 0,0280, 0,0220 } 0,0242 g Bleimercaptid.

20 g einer anderen Probe gaben nur 0,0069 g Bleimercaptid.

Legumin, von Merk in Darmstadt.
10 g gaben 0,0021, 0,0018 } 0,0020 g Bleimercaptid.

Die Farbe des Mercaptids war nicht rein gelb, obschon nur mit 3 proc. Salzsäure die Hg-Verbindung zerlegt wurde.

Blumenkohl, auf dem Wasserbad getrocknet, dann gepulvert.
20 g gaben 0,0305, 0,0255 } 0,027 g Bleimercaptid.

Blumenkohl, 20 g trocken, bei 35° an der Luft getrocknet, gaben 0,0745 g reines Bleimercaptid.

Rettige, wie vorstehend behandelt.
20 g gaben 0,025, 0,027 } 0,026 g Bleimercaptid.

Spinat, wie vorstehend behandelt.
20 g gaben 0,0185, 0,021 } 0,020 g Bleimercaptid.

Teltower Rüben. Desgleichen von oben behandelt.
20 g gaben 0,126 g Bleimercaptid.

Sellerie. 20 g gaben 0,031 g Bleimercaptid.

Wirsingkohl. 20 g gaben 0,032, 0,038 } 0,035 g Bleimercaptid.

Bohnenmehl, aus Bohnenkernen.
20 g gaben 0,025, 0,021 } 0,024 g Bleimercaptid.

Linsen. 20 g liefern 0,017, 0,012 } 0,015 g Bleimercaptid.

Erbsen. 20 g liefern 0,025 } 0,022 g Bleimercaptid.
0,019 }

Schwarzbrod. Käufliches Schwarzbrod wurde (Rinde und Krume) getrocknet.

1. 20 g gaben 0,021 g eines nicht rein gelben, sondern röthlichen Niederschlags.

2. 20 g gaben 0,024 g eines nicht rein gelben, sondern röthlichen Niederschlags.

Da der Versuch, rein gelbe Fällung zu erhalten, misslang, so wurde zum Zerlegen des Hg $(CN)_2$-Niederschlags die doppelte Verdünnung der sonst benützten Cl H angewendet.

3. 20 g gaben 0,020 g desselben rothen Niederschlags.

Die Natur desselben liess sich bei den kleinen Mengen nicht näher feststellen; jedenfalls kann Methyl- oder Aethylmercaptan nur in kleinen Quantitäten beigemengt gewesen sein.

Weissbrod. Getrocknet, dann geschmolzen.

1. 20 g gaben 0,013 g eines röthlichen Niederschlags.
2. 20 » » 0,047 » » » »

Mit der noch schwächeren Salzsäure zerlegt wie oben bei Schwarzbrod, mit dem gleichen Erfolg; rein gelbe Fällungen werden nicht erhalten.

Agar-Agar, käuflich, trocken bei 100°.

20 g mit 200 Kali lieferten unwiegbare Mengen gelben Bleimercaptids.

Wiederholung des Versuchs, das gleiche Resultat.

Spargel. 20 g trocken geben keine wiegbare Menge von Mercaptan.

Im Grossen und Ganzen verlief die Mercaptanbestimmung bei pflanzlichen Körpern ebenso wie bei den thierischen, nur dass die Quantität der Fällung in der Lösung von Quecksilbercyanid geringer war, wie bei den animalischen Nahrungsmitteln.

Bei der Zerlegung des Quecksilberniederschlags gab es mehrfach Schwierigkeiten; während selbst eine mittlere Concentration der Salzsäure wohl Quecksilbermercaptid, aber nicht Schwefelquecksilber zerlegt und wir nur der Sicherheit halber zumeist 5% Salzsäure anwandten, gelang es uns in mehreren Fällen auch bei Anwendung von 2% Salzsäure nicht rein gelbes Bleimercaptid zu erhalten.

Nach dem Ansäuren ging alsbald Mercaptan über, dann schieden sich aber röthlich braune Flöckchen aus; setzte man nun weiter Salzsäure zu, so änderte sich nichts an der Fällung, bis endlich das SHg_2 zerlegt wurde.

Diese röthlichen Flecken zu vermeiden, gelang nicht, bei Brod (dies haben wir schon erwähnt), ferner bei Legumin und den Leguminosen.

Ueber die Natur dieser Fällung lässt sich näher nichts sagen, da von einer Analyse wegen der kleinen Mengen nicht die Rede sein konnte. Wir vermuthen, es möchte sich um etwas Polysulfid gehandelt haben.

Nachstehend sind die Versuche tabellarisch zusammengefasst:

Tabelle II.

Substanz	Bleimercaptid gewogen	Bleimercaptid corrigirt	Auf 100 g Trocken-substanz	Methyl-mercaptan
Aleuronat	0,024	0,050	0,250	0,082
Legumin	0,002 (?)	(0,026)	(0,260)	(0,083)
Schwarzbrot . . .	0,022 (?)	(0,048)	(0,240)	(0,077)
Weissbrot	0,015 (?)	(0,040)	(0,200)	(0,064)
Bohnen	0,022 (?)	(0,048)	(0,240)	(0,077)
Linsen	0,014 (?)	(0,039)	(0,195)	(0,062)
Erbsen	0,022 (?)	(0,048)	(0,240)	(0,077)
Blumenkohl . . .	0,027	0,055	0,275	0,088
	0,074	0,144	0,570	0,182
Teltower Rüben .	0,126	0,179	0,895	0,286
Wirsing	0,035	0,065	0,325	0,104
Sellerie	0,031	0,061	0,305	0,098
Rettige	0,026	0,056	0,275	0,088
Spinat	0,020	0,046	0,230	0,074

Alle Nahrungsmittel gaben wenigstens kleine Mengen von Mercaptan; erheblichere Mengen nur Blumenkohl, Teltowerrübchen und Wirsingkohl. Die Zahlen für Brod und die Leguminosen halten wir aus den vorher auseinandergesetzten Gründen für zu hoch. Mercaptanarm sind die beiden pflanzlichen Eiweisskörper, das Aleuronat und Legumin. Ob das Mercaptan der pflanzlichen Nahrungsmittel aus deren Eiweissstoffen oder aus Stoffen der regressiven Metamorphose (ähnlich wie Fleischextract Mercaptan liefert) erzeugt war, sind wir nicht in der Lage bestimmt zu entscheiden.

Wo immer wir mittelst der Methode der Kalischmelzung Nahrungsmittel animalischer und vegetabilischer Herkunft untersucht haben, es lassen sich überall neben dem SH_2, welcher abgespalten wird, Methylmercaptangruppen nachweisen, die bisweilen sogar einen sehr erheblichen Bruchtheil der Gesammtmenge des in der Verbindung vorhandenen Schwefels ausmachen.

Unter welchen Bedingungen des täglichen Lebens werden diese Mercaptangruppen abgespalten und in Freiheit gesetzt? Sind dazu ausschliesslich nur die niederen Organismen befähigt oder gibt es auch Fälle, in welchen physikalische oder chemische Eingriffe genügen?

Mit diesen Fragen sollen sich die nachfolgenden Experimente befassen.

Zersetzung organischer S-haltender Substanzen durch trockene Destillation.

Dr. Stagnitta hat die Beobachtung gemacht, dass organische Substanzen durch einfache Zerlegung bei höheren Temperaturen erhebliche Mengen von Mercaptan abspalten, so dass man also des Zusatzes von Kali beim Erhitzen zur Zerlegung gar nicht einmal bedarf.

Wir haben die trocknen oder auch feuchten Substanzen in einen Kolben der mit einem Kühler und einer Woulff'schen Flasche als Vorlage versehen war, gebracht, allmählich erhitzt, die Gase dann durch $Hg(CN)_2$ geleitet und wie sonst die qantitative Bestimmung zu Ende gebracht.

Mehrfach haben wir beobachtet, dass es zweckmässiger ist, dort wo nicht erhebliche Mengen von Mercaptanen zu erwarten sind, die Substanzen zu trocknen, ehe man dieselben der Destillation unterwirft.

Die Spaltung beginnt vielfach bei etwa 170°[1]) und schreitet dann rasch weiter. Wir haben die Temperatur in einigen Versuchen im Paraffinbad auf 280° gesteigert, späterhin auf dem Sandbade diese Destillation unter allmählich steigender Temperatur bis zur Verkohlung der Substanz getrieben.

1) Bei einigen Stoffen war die Spaltungsgrenze erheblich niedriger. s. Niemann, diese Zeitschrift, Bd. XIX S. 126.

Durch den Kolben wurde wie sonst ein langsamer Luftstrom geleitet.

In keinem Falle der vorgenommenen Destillationen haben wir Mercaptan vermisst; auch die Quantitäten sind vielfach sehr erhebliche gewesen.

Untersucht wurden eine Reihe von Eiweissstoffen — Hühnereiweiss, Bluteiweiss, Eidotter, Rindfleisch, Schellfischfleisch,[1]) Caviar, Käsesorten, pflanzliche Nahrungsmittel, Fleischextract, Kaffee, Tabak.

Tabelle III.

Substanz	verbrannte Substanz	g Trocken-substanz	Bleimercaptid	corrigirt	für 100 g Trocken-substanz
Hühnereiweiss . .	trocken	20,0	0,134	0,189	0,945
Bluteiweiss . . .	»	20,0	0,065	0,103	0,505
Rindfleisch . . .	200 g frisch	48,0	0,149	0,207	0,431
Caviar	trocken	50,0	0,096	0,142	0,284
Schellfisch	»	20,0	0,095	0,141	0,705
Eidotter	»	40,0	0,031	0,059	0,147
Schweizerkäse . .	200 g frisch	140,0	0,644	0,844	0,603
Limburger . . .	» »	60,0	0,316	0,416	0,693
» . . .	» »	»	0,312	0,412	0,686
Kopfsalat	trocken	40,0	0,021	0,047	0,112
Steinpilze	»	20,0	0,013	0,037	0,185
Fleischextract . .	»	30,0	0,036	0,066	0,220
Galle, Rind . . .	»	20,0	0,021	0,047	0,225
Kaffee	100 [2])		0,031	0,059	0,059
Tabak	80 [2])		? (0,035)		
Assa fötida . . .	100 [2])		0,021	0,047	0,047

Es zerfällt also durch die alleinige Einwirkung der Hitze das Eiweiss wie auch andere N-haltige Stoffe unter Bildung von Mer-

1) Im Berliner Leuchtgas haben wir mehrfach nach Mercaptan gesucht, ohne solches zu finden.

2) Lufttrocken.

captan[1]). Dabei bedarf es aber der Abwesenheit des Luftsauerstoffs durchaus nicht. In unseren Versuchen hatte desselbe insofern freien Zutritt als ein continuirlicher Luftstrom durch den Kolben, in welchen die Zerlegung der organischen Substanz vor sich ging, geleitet wurde.

Die Möglichkeit durch trockene Destillaten Mercaptan nachzuweisen, thut die grosse Widerstandsfähigkeit dieser Verbindung dar.

Wo immer es sich um thierischen oder pflanzlichen Eiweissstoff und deren Derivate handelt, lässt sich durch die Erhitzung Mercaptan abscheiden. Vollzieht sich die trockene Destillation der betreffenden Substanzen im Freien, so ist von einem Mercaptangeruch nicht das Allergeringste wahrzunehmen; der letztere wird vollkommen verdeckt durch die brenzlichen Producte aller Art und durch das Ammoniak.

Durch das Auffinden der durch Hitze bedingten Abspaltung von Mercaptan sind wir mit einer im täglichen Leben wohl öfter gegebenen Bildungsweise von Mercaptan bekannt geworden. Eine Reihe von Nahrungsmitteln, wie Fleisch und Organtheile, werden geröstet; dabei mit Fett einer Temperatur von 150—160°, und darüber, ausgesetzt. Diese Temperaturgrade reichen vollkommen hin, um vielfach SH_2 und Mercaptan abzuspalten, Mercaptan und SH_2 müssen sich also dem »Küchendunste« beimengen. Noch energischer wird die Abscheidung von SH_2 und Mercaptan bei der Einwirkung höherer Hitzgrade, wie sie bei der völligen Verbrennung vor sich gehen; man wird daher die Wirkung des Rauches nicht wie bisher allein auf CO_2, CO und O-Mangel beziehen dürfen.

Bei dem Rösten des Kaffees wird Mercaptan, wenn schon nicht in grösseren Mengen entwickelt; auch im Tabakrauche findet sich Mercaptan. Doch war in diesem letzten Falle eine kleine Menge jenes braunrothen Niederschlages beigemengt, über dessen Vorkommen wir uns früher bereits geäusert haben.

1) 15 g trockene Prodigiosuscultur gaben keine wiegbare Menge von Mercaptan.

Tabelle IV.

Mit Kali gespalten bei 250°		Durch trockene Destillation	
Rindfleisch	0,565 %	0,431 %	Bleimercaptid
Schellfisch	0,755 »	0,705 »	»
Hühnereiweiss	0,731 »	0,945 »	»
Bluteiweiss	0,580 »	0,505 »	»
Eidotter	0,365 »	0,147 »	»
Fleischextract	0,430 »	0,220 »	»

Die Ergebnisse der Mercaptanabspaltung durch Kali bei 250° und trockener Destillation stimmen nicht in allen Fällen vollständig überein. Bei Rindfleisch erhielten wir beim Schmelzen mit Kali etwas mehr, als bei der Destillation, bei Schellfischfleisch war kaum ein Unterschied vorhanden, wie auch bei Bluteiweiss; erheblich mehr lieferte bei Destillation das Hühnereiweiss; weniger der Dotter und Fleischextract. Eine Ursache einer vermehrten Abspaltung kann vielleicht in der stärkeren Steigerung der Temperatur bei der trockenen Destillation gegenüber der Kalischmelzung gefunden werden.

Spaltung organischer Nahrungsmittel durch die Siedehitze.

Wir haben vor einiger Zett die Beobachtung mitgetheilt, dass das Hühnereiweiss durch die Anwendung höherer Temperaturen zersetzt wird, indem sich SH_2 abspaltet[1]). Aus 100 Theilen frischem Eieralbumin gewannen wir 0,0101 g SH_2 = 0,0095 g S; da das Eiweiss 12,7 % Trockensubstanz besass, machte der flüchtige Schwefcl 0,074 % des Trockengewichtes aus. Unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen verflüchtigte sich 6,43 % des Gesammtschwefels bei der Siedehitze.

Hiedurch war also ein Beispiel dafür gegeben, dass schon niedrigere Hitzgrade im Stande sind, energische Spaltungen herbeizuführen. Als wir weiter prüften, ob denn auch die eiweissärmeren pflanzlichen Nahrungsmittel in der Siedehitze SH_2 abzuspalten vermöchten, gelang uns der Nachweis einer SH_2-Abspaltung bei mancherlei Gemüsen. Da man eine Berechtigung zur Annahme hat, dass das Mercaptan vermuth-

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XVI, S. 59.

lich in einer ähnlich lockeren Verbindung wie das SH_2 enthalten sein kann, so suchten wir in den durch die Siedehitze abgespaltenen flüchtigen Verbindungen nach Mercaptan. Es ist uns der sichere Beweis geglückt, dass eine Reihe thierischer wie pflanzlicher Nahrungmittel bei der Siedetemperatur oder sogar schon unterhalb derselben Mercaptane zu entwickeln im Stande sind.

Wir haben die zerkleinerten Substanzen frisch in einen grösseren Kolben gebracht, mehrere Stunden unter Luftdurchleitung auf der Siedetemperatur erhalten.

Eine Uebersicht gibt folgende Zusammenstellung:

Tabelle V.

Name der Substanz	Reaction auf Isatinschwefelsäure	Nach Absorption des Mercaptans auf Bleipapiere
Wirsingkohl	sehr stark	sehr stark
Blumenkohl	» »	» »
Teltower Rübchen . .	stark	stark
Rosenkohl	deutlich	deutlich
Blaukraut	schwach	schwach
Rüben	0	deutlich
Rannen	0	»
Eier	0	sehr stark
Kleine gelbe Rübe . .	0	0
Grosse » » . . .	0	0
Petersilie	0	0
Knoblauch	0	0
Kohlrübe	0	0
Spargel	0	0
Rindfleisch	0	0
Milch, frisch	0	0

Die Erwärmung auf die Siedetemperatur genügt, wie das vorliegende Material beweist, in vielen Fällen flüchtige S-haltige Verbindungen abzuscheiden, während andere Nahrungsmittel trotz stundenlangem Kochen keinerlei Spaltung zeigen. Vergeblich haben wir uns bemüht, durch Kochen von Milch SH_2 zu erhalten.

Die Eier entwickelten ausschliesslich SH_2; auch als wir mit dem Eiweiss von 10 Eiern und mit der $Hg(CN)_2$-Methode noch eingehender prüften, gelang es auch nicht, Spuren von Mercaptan zu finden. Rüben und Rannen lieferten SH_2, kein Mercaptan. Wirsingkohl, Blumenkohl, Teltower Rübchen, Rosenkohl, Blaukraut lieferten zum Theil sehr erhebliche Mengen von Mercaptan und SH_2. Mercaptan als alleiniges Product haben wir nicht beobachtet. Nicht immer bedarf es zu diesen Spaltungen der Temperatur von 100°, sondern auch unter dieser Grenze scheint die Spaltung zu beginnen.

Der Wirsingkohl, Blumenkohl, Teltower Rübchen, Rosenkohl, Blaukraut sind jene Gemüse, welche beim Kochprocess in der Küche sehr unangenehme Gerüche erzeugen: doch war Niemand in der Lage durch den Geruchsinn das Mercaptan als einen Bestandtheil derselben zu erkennen, ebensowenig wie den SH_2.

Bei der principiellen Wichtigkeit der Sache sollten wir uns behufs des Nachweises von Mercaptan nicht etwa auf die Isatinschwefelsäureprobe allein stützen, obschon wir bis jetzt keinem Körper, welcher zu Verwechslungen mit Mercaptan führen könnte, begegnet sind.

Wir haben daher die Kochung der Mercaptan bildenden Vegetabilien in einem grossen Kolben vorgenommen und unter Durchleiten von Luft die Gase in $Hg(CN)_2$ aufgefangen. In allen Fällen erhielten wir die auch sonst gesehenen gelbgrünen und weisslichen Niederschläge.

Diese zerlegten wir mit verdünnter Salzsäure und leiteten das Mercaptan in die 3proc. Bleilösung; wir haben bei Blumenkohl, bei Teltower Rübchen, Rosenkohl, Wirsingkohl reichlich, bei Rothkohl nur Spuren einer gelben Bleiverbindung erhalten, die in den äusseren Charakteren vollkommen mit dem Methylbleimercaptid übereinstimmte. Die Quantitäten waren im Verhältnis zu der verwendeten Menge von Trockensubstanz und speciell im Verhältnis zu der vorhandenen Menge von Eiweiss sehr grosse.

Da Herr Dr. Niemann diese Frage der Spaltung durch die Wärme eingehender verfolgt und in diesem Archiv darüber be-

richtet hat, so kann auf die weitere Mittheilung von Zahlen hier verzichtet werden[1]).

Da bei dem Trocknen von Pflanzentheilen auf dem Wasserbad, wie wir es vor dem Schmelzen mit Kali bei Blumenkohl, Teltower Rübchen, Wirsingkohl vorgenommen haben, offenbar ein Theil des Mercaptans flüchtig geht, so geben diese Werthe nicht diejenige Grösse für Mercaptan, welche man erhalten müsste, wenn das Trocknen ohne Verlust vor sich ginge. Sie beweisen aber, dass nicht alles Mercaptan durch die Siedehitze abgespalten wird. Versuche mit Blumenkohl, der an der Luft bei 30° getrocknet, haben uns dargethan, dass es möglich ist, die Mercaptan bildende Substanz durch langsames Trocknen zu conserviren.

Die Mercaptane sind also Körper, welche sich im Küchendunst finden, wenn Teltower Rüben, Rosenkohl, Blumenkohl, Wirsingkohl, Rothkohl, der Kochung unterworfen werden.

Dass man ihren sonst sehr charakteristischen Geruch bisher nicht erkannt hat, führe ich auf die gleichzeitige Anwesenheit anderer Riechstoffe zurück. Wir haben mehrfach bemerkt, dass gerade der Geruech des Mercaptans leicht durch andere Stoffe verdeckt wird.

Auf die anderen Zersetzungsproducte, welche sich beim Kochen von Nahrungsmitteln entwickeln, ist in einer früheren Veröffentlichung bereits hingewiesen worden[2]).

Die Abspaltung von Mercaptan durch die Siedetemperatur des Wassers oder durch Temperaturen, welche selbst unter derselben liegen, dient der Anschauung über das Vorhandensein präformirter Mercaptangruppen in den Eiweissstoffen zur Stütze.

Mercaptanausscheidung im Harn.

Nachdem wir gefunden hatten, dass bei einer Reihe von Vegetabilien durch ausserordentlich einfache Eingriffe, wie durch Kochen, eine Abspaltung von Mercaptan auftritt, schien es uns

---

1) s. dieses Archiv, Bd. XIX S. 126.

2) l. c.

von Interesse, zu erfahren, ob nicht etwa bei dem Process des Durchtritts durch den Darmkanal eine Abspaltung von Mercaptan und Ausscheidung im Harn sich einstellt.

Eine Beobachtung über den Austritt von Mercaptan im Harn liegt, wie oben erwähnt, bereits vor.

M. Nencki hat im Harn mehrerer Personen, welche eine grosse Quantität von Spargeln genossen hatten, Mercaptan gefuuden. Er erhielt beim Einleiten des durch Zerlegung des Quecksilberniederschlages frei gemachten Gases in Bleilösung gelbe Krystalle und nahm den Geruch des Mercaptans wahr. Er vermuthet die Anwesenheit von Methylmercaptan.

Die Spargel gehören nach unseren Beobachtungen nicht zu jenen Vegetabilien, welche beim Kochen sicher erkennbare Mercaptanmengen liefern, so dass also anscheinend keine Parallele zwischen leichter Zerleglichkeit in der Siedehitze und leichter Spaltbarkeit im Darm sich ergäbe.

Wir haben nun trotzdem versucht, mit Blumenkohl, Rothkohl, Teltower Rüben einen Ernährungsversuch zu machen; roh liessen sich beim Menschen diese Vegetabilien freilich nicht verabreichen. Doch hofften wir, dass in der zum Genusse zubereiteten Speise noch ausreichend leicht zerlegbares mercaptanlieferndes Material enthalten sei.

Am 23. März nahm der Eine von uns (St.) 400 g Blumenkohl auf. Der nach der Mahlzeit im Laufe des Tages entleerte Harn wird gesammelt. Er riecht eigenartig — gekochtem Kohl ähnlich. Der Harn wird mit Oxalsäure angesäuert und erhitzt, die Dämpfe durch Isatinschwefelsäure geleitet. Letztere färbt sich schön grün zum Beweise des Vorhandenseins von Mercaptan. Der am 24. März Morgens entleerte Harn zeigt weder einen charakteristischen Geruch, noch die Isatinprobe.

Mittags 2 Uhr des 24. März werden von St. 500 g Teltower Rübchen genossen; der erste Harn um 4 Uhr, also nach 2 Stunden, entleert. Er besitzt den eigenthümlichen Kohlgeruch. Angesäuert mit Oxalsäure und erhitzt erzeugen die durch Isatinschwefelsäure geleiteten Dämpfe deutliche Grünfärbung.

Mercaptan fand sich auch noch sicher in dem 8 Stunden nach der Mahlzeit entleerten Harne.

Am gleichen Tage verzehrte N. Mittags 2 Uhr 500 g Rothkohl gekocht. Die erste Harnportion konnte schon nach 1¼ Stunde gewonnen werden. Sie roch deutlich nach Kohl, und, in obiger Weise weiter behandelt, zeigte sich eine intensive Grünfärbung der Isatinschwefelsäure. Der vor Tisch entleerte Harn gab keine Mercaptanreaction.

Die von M. Nencki für Spargel gemachten Angaben sind wir in der Lage bestätigen zu können. N. nahm am 20. April Mittags 2 Uhr 250 g Spargel auf. Um 3 Uhr 40 Min. wurde Harn entleert, er riecht eigenartig und gibt ohne Säurezusatz beim Kochen die Mercaptanreaction mit Isatin, wie auch der um 5 Uhr 30 Min. entleerte zweite Harn.

Herr Dr. Deiters hat in meinem Laboratorium den Versuch mit Blumenkohl an sich mehrfach mit demselben positiven Resultate zwecks anderer Untersuchungen wiederholt.

Die Menge des ausgeschiedenen Mercaptans erscheint aber gering, wenigstens sind die Bemühungen, es quantitativ im Harn zu bestimmen, bis jetzt gescheitert. Ob die Eigenart des Geruches derartigen Harnes ausschliesslich durch das vorhandene Mercaptan zu erklären ist, lassen wir dahingestellt.

Der leichte Uebergang von Mercaptan in den Harn kann vielleicht durch die geringere Bindung im Darme erklärt werden; Eisensalze, welche z. B. leicht den SH_2 in Beschlag nehmen, verhalten sich dem Mercaptan gegenüber indifferent.

Die Versuche zeigen also, dass das Vorkommen von Mercaptan im Harn nach Genuss von Vegetabilien sicherlich ein recht häufiges sein wird. Denn die genannten Gemüse, insbesondere der Rothkohl, gehören während des Winters und Frühjahres zu den häufigen Gästen der Tafel.

Das rasche Auftreten des Mercaptans, schon eine Stunde nach der Mahlzeit, macht es nicht sehr wahrscheinlich, dass wir es mit einer bacteriellen Zersetzung im Darm zu thun haben, dasselbe legt vielmehr den Gedanken nahe, er möchte bereits bei

den einfachen fermentativen Vorgängen der Verdauung zu einer Abspaltung der Mercaptangruppe kommen [1]).

Bei Rothkohl, Teltower Rübchen, Blumenenkohl könnte man vermuthen, Mercaptan sei durch den Kochprocess vielleicht schon abgeschieden, nicht aber aus der Speise ausgetrieben gewesen und so in den Harn gelangt. Es hat sich aber der durch das Kochen nicht veränderte Spargel doch ebenso verhalten und ausserdem spaltet sich beim Kochen nicht plötzlich alles durch die Siedehitze abspaltbare Mercaptan ab, das abgespaltene entweicht bei der saueren Beschaffenheit der Gemüse alsbald.

Nachdem wir gezeigt haben, dass eine Reihe von Vegetabilien bei ihrer Wanderung durch den Verdauungstractus Mercaptan liefern, welches auch im Harne nachzuweisen ist, erscheint uns auch die Angabe von L. Nencki [2]), welcher aus 3 kg frischer Fäces kleine Mengen von Mercaptan gewann, recht wohl verständlich. Einwandsfrei sind aber seine Untersuchungen insoferne nicht, als behufs Nachweises von Mercaptan die Fäces mit Oxalsäure destillirt wurden; es war also eine durch die Siedehitze eingeleitete Zersetzung einer Mercaptan liefernden Substanz nicht absolut ausgeschlossen.

Bei Versuchen über das natürliche Vorkommen von Mercaptan wird man in Zukunft auf die Zerlegbarkeit organischer Nahrungsstoffe durch die Siedehitze achten müssen.

Wenn schon durch unsere, wie Nencki's Versuche bewiesen ist, dass aus der eingeführten Kost Mercaptan abgespalten wird und im Harn nachzuweisen ist, so darf man eine quantitative unveränderte Ausscheidung des erzeugten Mercaptans im Harn wohl nicht annehmen. Bei Thieren hat man darthun können, dass nach Zufuhr von Mercaptan der »unoxydirte Schwefel« im Harn zunimmt [3]).

Bemerkenswerth ist, dass die Mercaptane durch Eisenverbindungen nicht wie der Schwefelwasserstoff festgehalten werden;

---

1) Aus Fibrin oder Fleisch wird bei der Pepsin- und Trypsinverdauung — unter Zusatz von Thymol — weder Schwefelwasserstoff noch Mercaptan frei.

2) Monatshefte für Chemie, Bd. X, S. 862.

3) Annal. de l'institut imper., 1893, S. 205.

im Koth kann daher wohl Schwefeleisen sich in grösseren Mengen anhäufen, eine Bindung des Mercaptans kann aber durch die gleichen Mittel, wie wir bereits oben angedeutet haben, nicht erfolgen[1]).

Mercaptanabspaltung bei biologischen Processen.

Die Mercaptangruppe befindet sich, wie wir eingehend nachgewiesen haben, zum Theil in so ausserordentlich lockerer Verbindung in manchen Nahrungsmitteln, dass vielerlei Einflüsse des täglichen Lebens dieselben in Freiheit setzen können.

Die Siedehitze, die Röstung und Verbrennung, die Verdauung scheiden sie in vielen Fällen ab; die Gruppe selbst ist von grosser Beständigkeit. Unverändert verträgt sie 250—280°, ja selbst die trockene Destillation wird derselben nicht gefährlich. Wenn sie nun aber der Verbrennung des Eiweisses mit Kali und der Zerstörung durch Hitze gewachsen ist, so scheint es naheliegend, dass man den Mercaptanen als Resten der natürlichen Auflösung complicirter S-haltiger Moleküle durch biologische Processe, auch bei den durch Mikroorganismen gegebenen Zersetzungen begegnen wird.

a) Versuche mit Reinculturen.

In Bacterienculturen hat man mehrfach bereits Methylmercaptan gefunden. M. Nencki und N. Sieber[2]) haben es bei anaërobem Wachsthum des Bac. liquefaciens magnus gesehen[3]), ferner bei anaërobem Wachsthum von Emphysembacterien auf Fleisch. Sie fügen hinzu, dass sie Mercaptan bei verschiedenen Zersetzungen des Eiweisses und des Leims durch verschiedene Mikroben beobachtet haben.

Karpus[4]) hat im Harn eines Pneumonikers durch eine Bacterienart Mercaptan auftreten sehen.

Wir haben öfters bei der Zersetzung verschiedener Nährböden auf Mercaptan geprüft und dasselbe als einen Begleiter des Schwefelwasserstoffs getroffen.

---

1) Niemann, dieses Archiv, Bd. XVIII S. 125.

2) Monatsh. f. Chemie, Bd. X, S. 526.

3) Leon Selitremy, a. a. O. S. 908.

4) Archiv. f. pathol. Anat. u. Physiol., Bd. CXXXI, Heft 2, 1893.

Proteus vulgaris entwickelte (3 Wochen) in Bouillon (60 g Fleischextract pro 1000 ccm) Schwefelwasserstoff und Mercaptan, ebenso in Gelatine (nach 3 Wochen) sehr viel von beiden Körpern; die Tetanusbacillen in Bouillon binnen 4 Wochen sowohl Schwefelwasserstoff als Mercaptan.

Bei der Zerlegung von Eiern durch Bacterien scheint nicht immer neben SH_2 auch Mercaptan gebildet zu werden, bei länger dauernder Kultur von Bac. oogenes hydrosulfureus β (Zörckendorffer) war nach mehreren Wochen im Eiinhalt nur SH_2 zu finden. Die Eier wurden zuerst in der Kälte mit Oxalsäure angesäuert und die Gase durch Isatinschwefelsäure getrieben, später erwärmt; bei Bac. oog. hydrosulfureus δ fanden wir bei hochgradiger Zersetzung des Eies etwas Mercaptan, das nach dem Erhitzen überging; ebenso verhielt sich hydrosulfureus γ, der auch SH_2 und Mercaptan gab.

Cholera asiatica in Ei cultivirt gab nur SH_2, desgleichen Metschnikoff, Mercaptan war aus dem Inhalt von je 2 Eiern nicht zu gewinnen.

Buijwid[1]) berichtet über einen im Weichselwasser aufgefundenen Commabacillus, der auf Platten Geruch nach Methylmercaptan erzeuge; weitere Beweise für das Vorhandensein von Mercaptan werden nicht beigefügt.

Die vorstehend genannten Fälle der bacteriellen Zersetzung können als Beispiele für das häufige Vorkommen von Mercaptan bei derartigen Spaltungen gelten; einer specielleren Untersuchung wird es vorbehalten bleiben müssen, inwieweit die verschiedenen Bacterienarten und Bacteriennährböden sich für die Spaltungen eignen.

Die Studien über das Mercaptan haben uns erneute Gelegenheit verschafft, den Wanderungen des Schwefels bei dem Bacterienwachsthum und dem Stoffverbrauch etwas nachzugehen; zwar werden wir in einer für später vorbehaltenen Mittheilung Gelegenheit nehmen, auf diese Fragen näher einzugehen, immerhin aber wollen wir nicht versäumen, einige nicht unwichtige Punkte hier hervorzuheben.

1) Centralbl. f. Bact. etc., 1893, Nr. 4.

Das gleichzeitige Vorkommen von Mikroorganismen in Nährflüssigkeiten und von Mercaptanen (neben SH_2) drängt zu der Frage nach der Quelle des Mercaptans und nach der Art der Abspaltung. Bereits in einer früheren Abhandlung haben wir für den SH_2 darthun können, dass derselbe aus den organischen Schwefelverbindungen durch directe Einwirkung der Bacterien entsteht.

Man wird die Mercaptanbildung durch Bacterien noch eingehender verfolgen müssen, gewisse Zielpunkte für die Betrachtung ergeben sich aber schon jetzt.

Die eine Möglichkeit der Mercaptanbildung wäre die, dass die Mikroorganismen die Nährstoffe der Nährlösung zur Leibessubstanz machen. Mercaptan wie (wie SH_2) könnte dann erzeugt werden durch den Eiweissumsatz im Protoplasma selbst bzw. durch das Absterben von Individuen und die Zerstörung ihres Zellleibes durch andere, einen dem Eiweissumsatze analogen Vorgang.

Die Prüfung dieser Möglichkeit ergibt sich aus dem folgenden Abschnitt.

b) Schimmelpilze, Hefe, Bacterien.

In älteren Culturen von Bacterien findet man bekanntlich regelmässig degenerirte Formen, welche eine Zerstörung und Auflösung des Bacterienleibs wahrscheinlich machen. Es könnten also namentlich in Mischculturen und bei dem natürlichen Ablauf der bacteriellen Zersetzungen angenommen werden, dass der Bacterienleib selbst wieder ein Substrat für die Zersetzung und für die Mercaptanbildung gibt.

Unsere Untersuchungen scheinen einen besonderen Reichthum an Mercaptangruppen in den Mikroorganismen nicht darzuthun.

Schimmelpilze (Penicillium glaucum): Sporen, 20 g trocken, mit 200 g Kali geschmolzen, lieferten Mercaptan, aber nicht wiegbare Mengen.

Hefe, Reincultur der Versuchsbrauerei zu Berlin: 20 g trocken, mit 200 g Kali geschmolzen, gaben nur 3 mg reines Blei-Mercaptid.

Prodigiosus: 15 g Trockensubstanz, mit 150 g Kali geschmolzen, gab nur eine qualitativ nachweisbare Menge eines gelben Blei-Mercaptids.

Alle drei Arten von Mikroorganismen zeichnen sich also durch den geringen Gehalt an Mercaptangruppen aus.

Sie können also als nennenswerthe Quellen der Mercaptanbildung nicht angesehen werden. Es scheint uns aber nach dem vorliegenden Material wenigstens die Vermuthung zulässig, dass bei dem Aufbau der Mikroorganismen bei bestimmten Nährmaterialien unter Umständen eine Verminderung von Mercaptangruppen nothwendig wird, wodurch dann Mercaptangruppen zur Auslösung und Abstossung frei werden können.

Neben dieser Möglichkeit kommen freilich noch weitere Modalitäten in Betracht; bei der lockeren Bindung eines Theiles des Gesammtschwefels und der leichten Abtrennbarkeit von SH_2 und Methylmercaptan kann man kaum in Abrede stellen, dass die den Bacterien inne wohnenden Zersetzungskräfte wohl auch zu einer derartigen Spaltung geeignet sein dürften.

In anderen Fällen haben wir eine ziemlich feste Bindung des Schwefels kennen gelernt; und nur durch höhere Hitzgrade SH_2 und CH_3SH abspalten können. Hiebei wäre es naheliegend SH_2- und CH_3SH-Bildung als ein Beispiel unvollkommener Verbrennung, wie solche im Bacterienstoffwechsel so häufig vorkommen, aufzufassen. Das Eiweissmolekül wird angegriffen und zertrümmert, die Energien der thermischen Gleichung einer derartigen Zerlegung zu Gunsten der Lebensprocesse in Beschlag genommen. SH_2 und Mercaptan bleiben als Reste des Eiweissmoleküles übrig.

Das häufige Vorkommen des SH_2 in Bacterienculturen beweist, dass die Bedingungen, für die weitere Zerlegung des SH_2 im Bacterienleib nur selten gegeben sein können; ähnlich liegt es vermuthlich für das Mercaptan.

Der thierische Organismus verfügt im Gegensatz zu den Bacterien über weit kräftigere Zerstörungsmittel; SH_2 wie CH_3SH dürfen zu den Producten des Abbaus der Eiweissstoffe durch die Zellen des Thierleibes nicht gerechnet werden.

Nicht immer und überall fungirt das Mercaptan als »Abfallsproduct«.

c) Hefegährung.

Es ist ein seit Langem bekannter Versuch, das man gährende Hefe Schwefelblumen zusetzen kann, ohne die Gährung zu beeinträchtigen; der Schwefelzusatz darf sogar das Gewicht der angewendeten trockenen Hefe erreichen. Die nunmehr entwickelte Kohlensäure führt dann 1—2 % SH_2 mit sich [1]. Es schien mir naheliegend, bei diesem Vorgange neben dem Schwefelwasserstoff Mercaptan zu vermuthen und zwar Aethylmercaptan.

Wir liessen mehrfach 30 g Hefe mit 15 g Traubenzucker und 1500 ccm Wasser unter Zugabe von 5 g Schwefelblume bei 20 bis 25° vergähren; die schwefelwasserstoffhaltige Kohlensäure leiteten wir durch Quecksilbercyanid, sammelten die reichlichen schwarzen Niederschläge und leiteten nach Zerlegung mit ClH nochmals in Quecksilbercyanid und zerlegten wieder. Bei den ersten orientirenden Versuchen haben wir nur auf Isatinschwefelsäure geprüft und positives Resultat erhalten, also die Anwesenheit von Methyl- oder Aethylmercaptan dargethan.

In anderen Versuchen liessen wir die Gase in 3 %ige Bleilösung treten und gewannen kleine Mengen reinen gelben Bleimercaptids, doch reichte die Menge trotz des grossen Aufwands an Quecksilberniederschlägen zur Bleibestimmung nicht aus. Mit grösster Wahrscheinlichkeit handelte es sich um Aethylmercaptan, unter allen Umständen um eine Synthese von Mercaptan. Dass Hefe ohne Schwefelblumen gährend weder SH_2 noch Mercaptan erzeugt, brauchen wir wohl nicht eingehend darzulegen.

Wir müssen also bei der Bacterienzersetzung neben der Abspaltung präformirter Mercaptangruppen die Synthese des Mercaptans als Möglichkeit offen halten. Die Erzeugung kleiner Mengen von Alkoholen hat man bei Bacterien mehrfach gesehen, desgleichen bilden manche intensiv SH_2. An den Vorbedingungen zu einer Synthese des Mercaptans scheint es demnach nicht zu fehlen.

1) Schützenberger, Die Gährungserscheinungen, 1876, S. 144.

d) Die natürliche Fäulnis.

Bei der natürlichen spontanen Fäulnis entstehen reichlich flüchtige Verbindungen, unter denen der Schwefelwasserstoff durch seinen prägnanten Geruch sich besonders bemerkbar macht; ob dabei aber auch Mercaptane entstehen, ist von vorneherein nicht mit Bestimmtheit anzunehmen, wenn schon wahrscheinlich, da alle der spontanen Fäulnis leicht anheimfallenden Nahrungsmittel von uns reich an Mercaptangruppen befunden wurden. Aber die bei der spontanen Fäulnis vorkommenden Mikroorganismen stellen Mischculturen dar, deren chemische Einwirkungen auf das Substrat noch ungenügend bekannt sind und deren zeitliche Aufeinanderfolge noch weniger geklärt erscheint.

Bei den von uns gemachten Beobachtungen an faulenden Organen zeigte sich als erstes flüchtiges Produkt stets der Schwefelwasserstoff; alsbald aber folgt dann die Mercaptanreaction.

SH_2 ist z. B. schon bei kurzer Aufbewahrung von Rindfleisch und anderen Fleischsorten, besonders leicht von Fischfleisch aufzufinden.

Wir haben die der Fäulnis zu unterwerfenden Organe zerkleinert, mit nicht sterilem Wasser angerührt in einem Kolben, dessen Ableitungsröhre die Gase durch Isatinschwefelsäure führte, belassen.

Nach 2 bis 3 Tagen zeigten die aus faulender Hirnsubstanz austretenden Gase deutlich Mercaptan, wenig Mercaptan lieferte die Leber trotz starker Fäulniszeichen, viel die Lungen, sehr viel die Milz, mittlere Mengen das Fleisch.

Wir haben bei einer anderen Versuchsreihe, welche über zwei Monate dauerte, die Gase durch Quecksilbercyanid streichen lassen; in der ersteren Zeit der Fäulnis trat offenbar Mercaptan, später fast nur SH^2 auf.

Nachdem kein weiteres Fortschreiten der Fäulnis wahrzunehmen war, wurde die in dem Kolben vorhandene Gasmasse durch Saugen nach der mit $Hg(CN)_2$ gefüllten Vorlage gebracht, der Kolben mit einem Kühler, einer Woulff'schen Flasche als Vorlage verbunden, erwärmt, später unter Oxalsäurezusatz die Gase

durch $Hg(CN)_2$ geleitet u. s. w. und das Bleimercaptid dargestellt. Hierbei hat sich Folgendes ergeben:

Tabelle VI.

Substanz	Dauer der Fäulniss in Tagen	g Trockensubstanz	Farbe der $Hg(CN)_2$-Niederschläge	Bleimercaptid in g	Corrigirte Werthe	in % der Trockensubstanz
Fleisch . .	69	120	gelbgrün	0,305	0,392	0,326
Gehirn . .	70	93,0[1]	»	0,057	0,093	0,100
Niere . . .	70	120,5[1]	»	0,052	0,085	0,071
Leber . .	69	142,0[1]	schwarz	unwiegbar	—	—
Blut . . .	71	95,0[1]	gelbgrün	0,022	0,048	0,050

Bei den Schmelzungen mit Kali hatte sich ergeben, dass die Mengen an präformirten Mercaptangruppen bei den verschiedenen Organen ungleiche sind. Nimmt man an[2]), dass etwa die Hälfte des Trockenrückstandes von Blut aus rothen Blutkörperchen, die andere aus Serumbestandtheilen sich zusammensetzt, so wäre die nach dem Mercaptangehalte geordnete Reihenfolge der Organe folgende: Fleisch, Leber, Niere, Blut, Hirn.

Nach der Menge des durch eine zweimonatliche Fäulnis frei werdenden Mercaptans aber ordnen sich die Organe wie folgt: Fleisch, Hirn, Niere, Blut, Leber, woraus sich ergibt, dass man aus der Menge des präformirten Mercaptans noch nicht auf die Menge des bei der spontanen Fäulnis freiwerdenden Mercaptans schliessen darf.

Wir dürfen nach den gemachten Erfahrungen über die spontané Fäulnis die häufige Anwesenheit von Mercaptan in der Luft dort vermuthen, wo sich Abfallstoffe thierischer Herkunft in grösseren Mengen ansammeln, und vielleicht sind manche Combinationen von Animalien mit gewissen Vegetabilien, wie sie sich in den Mullkästen, bei Markthallen im Kehricht finden, noch

1) Nach Mittelwerthen berechnet.

2) s. bei König, Nahrungs- und Genussmittel, 1880, II, S. 157.

mehr geeignet zur Mercaptanentwickelung als die Animalien für sich.

Bei der Reifung des Käses, wenigstens bei einigen Sorten, welche wir mit Oxalsäure destillirt haben, scheint Mercaptan nicht gebildet zu werden; es ist uns nie gelungen, aus der frischen Substanz eine auch nur sichere qualitative Probe zu erhalten.

Neben Mercaptan entstehen bei der Fäulniss, wie wir schon oben mitgetheilt haben, erhebliche Mengen von SH_2.

Bei der Fleischfäulnis haben wir aus 120 g 0,305 Mercaptan = **0,326** % . der Trockensubstanz erhalten und an SH_2 gefunden 0,222 Mercaptan = **0,185** % der Trockensubstanz.

Die Bilanz zeigt hier: Aus dem Fleisch kann durch Destillation gewonnen werden 0,431 % Bleimercaptid. In den Fäulnisgasen und durch Oxalsäure wurden ausgetrieben:

	0,326 g	Bleimercaptid entspr.
im gefaulten Fleisch war	0,246 „	„
Summa	0,572 g	Bleimercaptid.

Darnach würde es also den Anschein haben, als wenn durch die Bacterien noch mehr Mercaptan abgespalten würde, als man durch trockene Destillation gewinnen kann; aber es bleibt der Einwand, dass wir die Schmelzung vor dem Versuch bezw. Verbrennung nicht mit der gleichen Fleischsorte vorgenommen bezw. den Fettgehalt des Fleisches nicht bestimmt haben.

Andere Versuche haben gewisse Anhaltspunkte aber dafür gegeben, dass unter nicht näher bekannten Umständen vermuthlich Mercaptan weiter zu SH_2 zerlegt werden kann.

Das Vorkommen von Mercaptan neben SH_2 ist nicht allein wegen des widerlichen Geruches derartiger Verbindungen von Interesse und hygienisch beachtenswerth, sondern SH_2 wie Mercaptan sind bereits in kleinen Dosen giftig. Versuche an Fröschen und an Hunden überzeugten uns von der Giftigkeit der Mercaptane.

Seit unserer vorläufigen Mittheilung erschien eine Arbeit von Rekowsky[1]), welche nähere Angaben über die Giftigkeit des

1) Annal. d. l'institut imperial. 1893, S. 205.

Mercaptans macht; die letzte erreicht annähernd jene des SH_2. 0,130 g pro Kilo wirken tödtlich, 0,033 g pro Kilo erzeugen bereits schwere Vergiftungssymptome.

Die Bleiprobe.

Nach den Erfahrungen von Nencki, denen sich die unseren anreihen, begegnet man bei dem Wachsthum verschiedener Reinculturen auf Eiweis- oder Extractivstoff-haltenden Nährböden, ferner bei der natürlichen Fäulnis dem Methylmercaptan.

Auf die flüchtigen schwefelhaltigen Producte in Bacterienculturen, speziell auf den Schwefelwasserstoff, hat man namentlich in letzter Zeit systematischer Rücksicht genommen. Stagnitta[1]), Petri und Massen[2]) haben durch Einhängen von mit Bleizucker getränktem Papier in Culturkölbchen gezeigt, dass bei verschiedenartigen Bacterien eine Schwärzung des Bleipapiers erhalten wird, und diese Schwärzung als einen Beweis für die Anwesenheit von SH_2 angesehen.

Wenn wir uns die Eingangs dieser Arbeit bereits mitgetheilten qualitativen Reactionen des Methyl- oder Aethylmercaptans in's Gedächtnis rufen, so folgt aus den dort gemachten Angaben, dass das Mercaptan mit Bleizuckerlösung (S. 143) gelbe Niederschläge geben, welche, namentlich wenn sie in der Kälte wasserfrei geworden sind, als sehr beständig anzusehen sind.

Macht man aber einen Versuch analog so, wie bei der Prüfung von Bacterienculturen verfahren wird, dann verläuft die Reaction etwas anders. Methylmercaptangas verfärbt ein Bleizuckerpapier erst hellgelb, dann vollzieht sich bald das Gleiche, was man auch in Lösungen sehen kann, die Farbe dunkelt in Braun; während in Lösung aber mit dem Entstehen der bräunlichen Blättchen die Farbenänderung abschliesst, färbt sich das Bleipapier weit tiefer braun und braunschwarz. Nie haben wir eine so pechschwarze Farbe, wie sie schon kleine Mengen von SH_2 erzeugen, durch Methyl- oder Aethylmercaptan auftreten sehen.

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XVI, S. 10 ff.

2) Arbeiten aus d. kais. Gesundheitsamt, Bd. VIII, S. 318.

Wenn man sich etwas auf die Farbnuancen eingeübt hat, kann man mit einiger Wahrscheinlichkeit entscheiden, ob man SH_2 oder Mercaptan vor sich hat; aber eine sichere Methode zum Nachweis des einen oder des anderen ist das Bleipapier nicht, um so weniger, als oft bei Bacterienculturen die Reactionen überhaupt nur schwach auftreten.

Der einzige Schluss, welcher aus der Bräunung oder Schwärzung von Bleipapier gezogen werden darf, ist der, dass der Eintritt der Reaction die Anwesenheit »flüchtiger Schwefelverbindungen« beweist; es kann Schwefelwasserstoff, Mercaptan oder Gemenge beider vorhanden gewesen sein. Manche Thatsachen machen es aber wahrscheinlich, dass bei der Schwärzung und Bräunung des Bleipapiers in den Culturkölbchen wohl zumeist, wenn nicht ausnahmslos, Schwefelwasserstoff vorhanden war. Zunächst möchten wir auf den SH_2 als den steten Begleiter des Mercaptans bei allen Schmelzungen von organischen Nahrungsmitteln mit Kali, bei allen Versuchen der trockenen Destillation hinweisen; des Weiteren aber gelang uns mehrfach der Nachweis, dass durch die Siedehitze zwar Schwefelwassersoff, aber bei manchen Nahrungsmitteln kein Mercaptan abzuspalten ist; endlich hat sowohl Nencki wie wir bei Bacteriencultur immer neben SH_2 auch Mercaptan gefunden.

Bei chemischen wie biologischen Processen der Spaltung hat man neben dem Mercaptan also den Schwefelwasserstoff nie vermisst; wir glauben also, dass man die Veränderung des Bleipapiers, Schwärzung oder Bräunung, wie sie Stagnitta u. A. beobachtet haben, wohl wird auf Schwefelwasserstoff beziehen dürfen, daneben mag aber auch Mercaptan an der Veränderung des Bleipapiers sich betheiligt haben.

Unbeeinflusst von den Mercaptanen bleibt ein Reagens, das ich schon vor längerer Zeit durch Fromme[1]) habe benutzen lassen: die organischen Eisenverbindungen. Sind solche der Nährgelatine oder anderen Nährböden beigefügt, so färben sich die betreffenden Colonien durch SH_2 schwarz und wenn die

1) Inauguraldissertation, Marburg 1891.

Schwefelwasserstoffbildung eine sehr reichliche ist, wird die Colonie von einem schwarzen Hof umgeben. Auch Dr. Stagnitta[1]) hat mehrfach den Eisenzusatz zu Nährböden in Anwendung gezogen. Gewährt ein Nährboden die Sicherheit der Absorption des Schwefelwassersoffs, so würde die Braunfärbung eines eingehängten Bleipapiers nur auf die Mercaptane zu beziehen sein.

1) a. a. O.

Ueber einen neuen Wasser-Vibrio, der die Nitrosoindol-Reaction liefert.

Von

Max Neisser,

Arzt, aus Liegnitz.

(Mit Tafel I.)

Die Auffindung der Kommabacillen bei Cholera asiatica ist in den meisten Fällen auf der Höhe der Epidemie, wie die verschiedenartigen Beobachtungen aus früheren Epidemiejahren und aus dem vergangenen ergeben, und wie die Erfahrungen des letzten Jahres auch bei den Beobachtungen im hiesigen Institute gezeigt haben, mit keinen erheblichen Schwierigkeiten verbunden. Anders schon verhält es sich bei manchen Cholerafällen, bei denen die Heftigkeit der Krankheitserscheinungen gemildert war, wie z. B. bei der von Rumpel[1]) beschriebenen Nach-Epidemie in Hamburg. Vergeht nun aber durch Eisenbahn- und Post-Transport längere Zeit, ehe die Cholera-Dejectionen zur Untersuchung kommen, so häufen sich die Schwierigkeiten der Auffindung ungemein. Früher war man der Meinung, dass die beginnende Fäulnis sehr bald die Kommabacillen vernichte; Koch hat dieselben nach 24 Stunden in Abtrittsjauche nicht mehr gefunden. Dass aber die Kommabacillen auch unter erschwerenden Umständen, d. h. wenn die Fäulnis schon einen erheblichen Umfang angenommen hat, aufgefunden werden können, hat Gruber[2]) mittels eines Verfahrens, das eine Modification des Verfahrens von Schottelius[3]) darstellt, gezeigt.

Recht erheblichen Schwierigkeiten begegnet man vielfach bei der Auffindung von Choleravibrionen in Wasser und

1) Deutsche medic. Wochenschr., 1893, Nr. 7, S. 160.

2) Wiener medic. Wochenschr., 1887, Nr. 7, 8.

3) Deutsche medic. Wochenschr., 1885, Nr. 14.

anderen Objekten, deren Beziehung zu dem Kranken und seinen Dejecten keine ganz unmittelbare ist. Das directe Plattenverfahren ist in diesem Falle häufig genug durch den sonstigen Keimgehalt des Wassers, der bei kleinen Proben starke Verdünnungen erfordert, in seinem Werthe beschränkt, wenngleich man heut zu Tage in der Verwerfung der Plattenmethode zur Untersuchung auf Choleravibrionen vielleicht zu weit geht. Wie aus den Experimenten, die Dr. Rehsteiner im hiesigen Institute ausgeführt hat, hervorgeht, ergibt die Plattenmethode hinsichtlich der Auffindung und Erkennung der Choleravibrionen selbst bei dichtem Wachsthum auf den Platten noch zufriedenstellende Resultate.

Immerhin aber ist man genöthigt gewesen, noch schärfere Methoden zur Auffindung der Choleravibrionen heranzuziehen. Wie die verschiedenartigen Veröffentlichungen erkennen lassen, ist man allerorts dazu übergegangen, trotz gewisser methodischer und wissenschaftlicher Bedenken, bei Prüfung von Choleradejectionen, wie auch bei der des Wassers eine sogenannte Vorcultur nach Schottelius vorauszuschicken, während das Verfahren von Buchner[1]) (der eine sterilisirte Flüssigkeit verwandte, die er durch Filtration einer 8 Tage lang bei 37° gezüchteten und dann durch Erhitzen getödteten Reincultur von Kommabacillen in Fleischwasserpeptonlösung, gewann) nur von Gruber und Schill[2]), aufgenommen und empfohlen worden ist.

Die Materialien, die man zur Vorcultur verwendet hat, sind verschiedene gewesen. Wir werden nicht fehlgehen, wenn wir annehmen, dass die Mehrzahl der Beobachter Peptonbouillon verwendet hat. Löffler[3]), Fischer[4]), Poniklo[5]) geben Bouillon

1) Ueber die Cholerauntersuchung in Palermo. Münch. ärztl. Intelligenzbl., 1885, S. 752.

2) Centralbl. f. Bact. 1893, Bd. XIII, Nr. 23.

3) Centralbl. f. Bact., 1893, Bd. XIII, S. 384.

4) Deutsche medic. Wochenschr., 1893, Nr. 23, S. 541.

5) Wiener klin. Wochenschr., 1893, Nr. 14.

an, Arens[1]) gibt Zusatz von 1/7 Pankreasbouillon und von 0,05 bis 0,08 % Kalilauge an, Flügge[2]) und Koch[3]) schliesslich Zusatz von 1 % Pepton und 1 % Kochsalz.

Mit all diesen Vorculturen wird eine Vermehrung der Cholera-vibrionen bezweckt; es liegt aber in der Natur der Sache, dass man damit auch alle beweglichen, sauerstoffbedürftigen, bei Bruttemperatur gedeihenden Wasserbacterien[4]) mitzüchtet, ein Umstand, der die Untersuchung wesentlich erschwert. Und gerade in letzter Zeit sind aus Wasser viele neue Vibrionen gezüchtet worden, die morphologisch und in ihren Wachsthums-Verhältnissen und -Bedingungen mehr oder minder Aehnlichkeit mit dem Cholera-Vibrio haben. Seit C. Günther[5]) im hiesigen Institute zuerst seinen V. aquatilis aus Spreewasser reingezüchtet hat, haben Weibel[6]), Bujwid[7]), Russel[8]), Fokker[9]), Löffler[10]), Kiessling[11]) aus Wasser und B. Fischer[12]) aus diarrhöischem Stuhl neue Vibrionen aufgefunden. Und Koch[13]) berichtet von etwa 12 Wasservibrionen, über die sein Laboratorium zur Zeit verfügt.

Wie häufig diese Befunde im Trinkwasser wiederkehren, lässt sich bisher nicht beurtheilen; sehr seltene Vorkommnisse scheinen sie jedoch nach den im hiesigen Institute gemachten

---

1) Münch. medic. Wochenschr., 1893, Nr. 10.

2) Zeitschr. f. Hygiene, 1893, Bd. XIV.

3) Zeitschr. f. Hygiene, 1893, Bd. XIV, Heft 2.

4) Die Literatur berichtet bisher nur von neuen Vibrionen, die auf diese Weise gefunden wurden.

5) Deutsche medic. Wochenschr., 1892, Nr. 49, S. 1124 (Orig.-Vortr. Deutsche Medicinal-Zeitg., 1892, S. 1185.)

6) Centralbl. f. Bact., 1893, Nr. 4, aus Brunnenwasser.

7) Dasselbe, 2 Arten.

8) Zeitschr. f. Hygiene, 1891, Bd. XI, S. 198, Spirillum marinum aus dem Golf von Neapel.

9) Deutsche medic. Wochenschr., 1893, Nr. 7.

10) Centralbl. f. Bact., Bd. XIII, S. 384, 2 neue Arten.

11) Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte, 1893, Bd. VIII. Aus Altonaer Wasser.

12) Deutsche medic. Wochenschr., 1893, Nr. 23, 24, 25, 26; V. helkogenes, aus diarrhöischem Stuhl.

13) a. a. O.

Erfahrungen nicht zu sein. Sie erschweren das Urtheil und halten die Diagnose oft lange Zeit im Zweifel. Und dass diese im Wasser aufgefundenen Kommaformen nicht immer leicht vom Cholera-Vibrio zu unterscheidende Dinge darstellen, geht am besten aus den Beobachtungen, die man in Altona[1]) gemacht hat, hervor.

Von einem daselbst mehrere Tage hinter einander gefundenen Kommabacillus wurde nach Prüfung im kaiserl. Gesundheitsamte[2]) erklärt, dass es wahrscheinlich der Choleravibrio sei, während sich später zeigte, dass man es mit einem ungefährlichen Saprophyten zu thun hatte. Dieser Saprophyt, Vibrio aquatilis[3]), um den es sich in dem erwähnten Falle handelte, ist zuerst im hiesigen Institute im Stralauer Wasser aufgefunden, zu einer Zeit, als Berlin von der Invasion der Cholera bedroht war, und glücklicherweise gelang es so rasch, seine Differenzirung von Cholera asiatica durchzuführen, dass Berlin von einem blinden Lärm verschont blieb.

Die Differenzirung des Vibrio aquatilis von Cholera-Vibrio ist aber immerhin leichter, als die eines neuen Vibrio's, über den ich nachstehend berichten werde und dessen Aehnlichkeit mit dem Choleravibrio eine ungemein grosse ist.

Alle bisher bekannten Vibrionen-Arten nämlich — also ausser den erwähnten auch die schon früher bekannten Vibrionen Finkler, Deneke, Metschnikoff, Miller —, mit einer Ausnahme, unterscheiden sich, nächst anderen Unterscheidungsmerkmalen, von dem Vibrio Cholerae asiaticae ganz streng durch das Fehlen der Nitroso-Indol-Reaction. Diese eine Ausnahme bildet der Vibrio Metschnikoff; nur er liefert, wie der der Cholera, in Peptonwasser 24 Stunden lang bei 37° gezüchtet, auf Zusatz von reiner, verdünnter Schwefelsäure die bekannte Purpur-Färbung. Aber gerade dieser Vibrio unterscheidet sich schon morphologisch durch seine fast halbkreisförmige Krümmung und nächst-

1) Wallichs, Cholera in Altona. Deutsche medic. Wochenschr., 1892, Nr. 46.

2) S. o. Die Identität s. Kiessling, Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte, 1893, Bd. VIII, S. 437.

3) Hygien. Rundschau 1892. S. 250.

dem durch seine Pathogenität für Tauben am besten vom Cholera-Vibrio. Und, wie schon gesagt, stammt er nicht aus dem Wasser, ist auch noch nie darin gefunden worden.

Wir hatten also bisher in der richtig angestellten Indol-Reaction ein sicheres differential-diagnostisches Mittel, um den Cholera-Vibrio von allen Wasser-Vibrionen zu unterscheiden.

Es hat sich nun im filtrirten Wasser der Stralauer Werke ein Vibrio[1]) gefunden, der morphologisch dem Cholera-Vibrio sehr ähnlich ist, und unter denselben Bedingungen wie dieser die Indol-Reaction in gleicher Weise liefert. Diese Thatsache ist an sich wichtig genug, eine genauere Beschreibung des neuen Vibrios zu rechtfertigen.

Schon die Art der Auffindung war lehrreich. Ich arbeitete anfangs experimentell über den Nachweis von Cholera-Keimen in Leitungswasser. Zu dem Zwecke wurde neben anderen Experimenten auch eine Wasser-Aufschwemmung von Cholera-Vibrionen hergestellt, deren Keimgehalt pro Cubikcentimeter durch Zählplatten festgestellt wurde. Von dieser Aufschwemmung wurde einem Quantum Leitungswasser, das vorher mit 1 % Kochsalz und 1 % Pepton versetzt war, eine bestimmte Menge zugefügt. Um die Cholera-Keime wiederzufinden, wurde nach dem neuen Koch'schen Schema[2]) verfahren, nur wurde nicht, wie vorgeschrieben ist, von den Wasserkolben abgeimpft, nachdem sie 10, 15 und 20 Stunden im Brutschrank gestanden hatten, sondern es wurde hierin den Angaben anderer Autoren, die ähnliche Anreicherungs-Methoden angegeben haben (auch die anderen citiren Fischer u. s. w.), gefolgt und nach etwa 18 und 23 Stunden abgeimpft. Die so von der Oberfläche der Wasserkolben abgeimpften Proben wurden auf Agarschalen ausgestrichen, nach 24 Stunden (37 °) choleraverdächtige Colonien untersucht und bei Vibrionen-Befund in 1 % Peptonwasser (1 % Pepton, 1 % Kochsalz) übertragen. Nach 24stündigem Verweilen der Peptonwasserröhrchen im Brutschrank wurde von ihnen je eine Oese entnommen und, falls der Inhalt

1) Herr Prof. Rubner hatte die Güte, die erste Mittheilung von dem neuen Vibrio in der Hyg. Rundschau 1893, Nr. 16 zu veröffentlichen.

2) a. a. O.

des Röhrchens auf Zusatz reiner, stark verdünnter Schwefelsäure die Indol-Reaction gab, auf Agar übertragen. Schliesslich wurde noch zur weiteren Sicherung der Diagnose der Thierversuch angeschlossen. Es wurde also am nächsten Tage von der frischen Agar-Cultur eine Oese entnommen, in 1 ccm steriler Bouillon gelöst und diese Menge einem Meerschwein intraperitoneal eingespritzt. Auf diese Weise wurde z. B. in einem Kolben mit 175 ccm Leitungswasser (versetzt mit 1 % Kochsalz und 1 % Pepton), dem nach der Zählung etwa 3 bis 4 Cholerakeime pro Cubikcentimeter Wasser zugesetzt waren, die Cholerakeime nach 23 Stunden wiedergefunden. (Vibrionen. Im Peptonwasser Indol-Reaction. Das inficirte Meerschwein zeigte starken Temperaturabfall und starb innerhalb 24 Stunden. Die Section zeigte eine frische, seröse Peritonitis. Am Darm war keine Verletzung zu entdecken. Im Exsudat wurden durch Cultur Cholera-Vibrionen nachgewiesen.) Auch in einem 2. Falle, in dem zu 180 ccm Leitungswasser (versetzt mit 1 % Kochsalz, 1 % Pepton und 0,05 % Kalilauge) etwa 20 Cholera-Keime pro Cubikcentimeter Wasser zugesetzt waren, wurden die Cholera-Keime auf diese Weise wiedergefunden.

In einem 3. Falle endlich — und der wurde der Ausgangspunkt alles Späteren — wurden die zugesetzten Cholera-Keime scheinbar auch wiedergefunden, und zwar, wie ich noch einmal bemerke, mit Hilfe der Agarschalen-Methode. Es entstand nämlich auf der Agarplatte Wachsthum wie bei Cholera, bei Zugabe von Schwefelsäure in den Peptonröhrchen eine schöne Reaction, der angestellte Thierversuch fiel aber negativ aus. Es wurden nun weitere Untersuchungen mit dieser angeblich ungiftigen Cholera angestellt, allein schon die ersten von dem Material angelegten Gelatineplatten ergaben mit Sicherheit, dass man es nicht mit Cholera zu thun hatte. Von da an wurde der neue Vibrio in seinen Lebenseigenschaften untersucht, und zwar war die Untersuchung eine vergleichende, ein Vergleich mit dem Vibrio Cholerae.[1]) Es wurden stets gleich alte Culturen benutzt, die unter absolut gleiche Bedingungen gesetzt wurden.

---

1) Hamburger Cholera von dem Jahre 1892, aus dem Stuhl eines genesenen Cholera-Kranken stammend.

I. Morphologie.

Der neue Vibrio, er darf wohl nach seinem Fundort Vibrio Berolinensis genannt werden, ist ein kleines gekrümmtes Stäbchen, gewöhnlich vielleicht etwas kleiner als der Cholera-Vibrio, aber von verschiedener Grösse, morphologisch jedenfalls vom Cholera-Vibrio in nichts Wesentlichem unterschieden. Man sieht häufig 2 Vibrionen mit einem Ende an einander liegen. Fäden und spirillenartige Gebilde wurden in älteren Agarculturen selten, schlecht färbbare Insolutionsformen öfter gesehen. Die Krümmung ist etwa dieselbe, wie die des Komma-Bacillus. Im hängenden Tropfen sind Proben aus frischen Culturen sehr beweglich. Beizpräparate zeigen am einen Ende des Vibrio eine lange, in vielfachen Windungen geschwungene Geissel. Sporenbildung wurde nicht gesehen. Nach Gram trat Entfärbung ein.

II. Wachsthum.

Der Vibrio Berolinensis wächst auf allen untersuchten Nährböden bei Zimmertemperatur (20—22° C.) und Bruttemperatur sehr gut, bei beiden Temperaturen meistens besser als Cholera, nur in der Gelatine weniger gut.

A. Feste Nährböden.

Das am meisten in die Augen fallende und deshalb wesentlichste Unterscheidungs-Merkmal des Vibrios vom Cholera-Vibrio ist sein Wachsthum auf der Gelatine-Platte. Er verflüssigt die Gelatine sehr langsam, viel langsamer als Cholera. Nur in Platten mit sehr dichtem Wachsthum tritt in mehr als einer Woche Verflüssigung ein. Die Colonien sind selbst nach 48 Stunden makroskopisch und mit der Lupe häufig genug nicht zu sehen. Mikroskopisch sind die Colonien nach 24 Stunden klein, rund, scharfrandig. Sie wachsen in allen Tiefen der Gelatineschicht, sind fast gar nicht oder fein gekörnt, sind hell durchscheinend, ohne Färbung, manchmal wie Fetttröpfchen aussehend. Gegen ihre Umgebung sehen sie manchmal leicht bläulich aus. An der Oberfläche der Gelatine können sich

die Colonien etwas ausbreiten und transparente, häutchenartige Colonien mit einer runden Colonie als Kern bilden. Sie überschreiten auch nach Tagen eine gewisse, mässige Grösse nicht. Eine Trichterbildung, die ja von vorgeschrittener Verflüssigung zeugen würde, tritt nie auf. Der Rand bleibt stets gleichmässig scharf. Die beigegebenen Photogramme zeigen den Unterschied genügend deutlich. Auf Mischplatten von Cholera und Berolinensis waren die Cholera-Colonien nach 24 Stunden grösser und auf den ersten Blick mit Sicherheit zu unterscheiden.

Auf der erstarrten Oberfläche einer in Petrischalen gegossenen Gelatineschicht ausgestrichen, zeigte der Vibrio dieselben Colonien, wie auf der ebenso hergestellten Agarschale (s. d.).

Das geringe Vermögen des Vibrios, die Gelatine zu verflüssigen, zeigt sich auch im Gelatinestich.

Gelatinestich.

Ch. = Cholera.
B. = Berolinensis.

Nach dem 1. Tag	Beide fast gleich, B. etwas entwickelter.
2. »	Beide fast gleich.
3. »	Stich bei beiden ziemlich gleich. Bei Ch. Anfang der Bildung der Luftblase, bei B. viel weniger.
5. »	Bei Ch. trichterförmige, etwa erbsengrosse, bei B. etwa halb so grosse Luftblase.
6. »	Trichter bei Ch. tiefer als bei B.
7. »	Trichter bei Ch. tiefer als bei B.
8. »	Luftblase bei Ch. fast doppelt so gross als bei B.
9. »	Luftblase bei Ch. etwa 1 cm tief, bei B. mehr dellenartig und etwa $^1/_2$ cm tief.
11. »	Trichter bei Ch. wesentlich tiefer, als bei B.
14. »	Bei Ch. ein Trichter, der bis auf den Boden des Röhrchens reicht. Bei B. Stich weissgrau, oben halbkugelförmige, $^3/_4$ cm tiefe Delle von 1 cm Durchmesser.
17. »	Ebenso, nur weiter entwickelt.
19. »	Ebenso.

Auf gewöhnlichem Agar und Glycerin-Agar wächst der V. Berolinensis bei Zimmer- und Bruttemperatur sehr gut. Er bildet nach 24 Stunden Zimmertemperatur auf Agar einen feinen, graugelben, wenig erhabenen, durchscheinenden, leicht feucht glänzenden Rasen, der bei Bruttemperatur dichter und weniger transparent ist; d. h. also, er ist darin von Cholera-Vibrio und

vielen anderen nicht wesentlich verschieden. Auf der Oberfläche der erstarrten Agarplatte ausgestrichen, bildet er Colonieu, die mikroskopisch den Cholera-Colonien sehr ähnlich, nur etwas weniger transparent sind.

Kartoffel-Culturen.

Es wurden dazu Kartoffelculturen in Reagenz-Röhrchen angelegt und zwar von Salat-Kartoffeln, deren Durchschnitt eine ganz schwach sauere Reaction zeigte.

Ausserdem wurden Kartoffeln bereitet, die vor der Sterilisirung mit 1%iger Sodalösung (Soda-Kartoffeln), und solche, die mit 1/4 %iger Essigsäure (Essigsäure-Kartoffeln) begossen waren, und schliesslich solche, die unmittelbar vor dem Einbringen in die Röhrchen 1/2 Stunde lang in 3%iger Kochsalzlösung (Kochsalzkartoffeln) gekocht waren. Diese verschiedenen Kartoffelsorten wurden inficirt und je eine Cultur Cholera und Berolinensis einer Temperatur von 37°, 25°, 17° ausgesetzt.

Gewöhnliche Kartoffeln.

37°	25°	17°		
Gelbl. feuchter Belag	Gelber feuchter Belag	Gelbl. feuchter Belag	Berolinensis	Nach dem 1. Tag
Ebenso, schwäch.	»	»	Chol.	
Gelblich feucht	Gelb schmierig	Gelb feucht	Berolinensis	Nach dem 2. Tag
Gelbbraun	Gelbbräunlich, schmierig	»	Chol.	
Unbrauchbar	Gelbbraun	—	Berolinensis	Nach dem 4. Tag
Schmierig gelbbraun	Gelbbräunlich	—	Chol.	

Soda-Kartoffeln.

37°	25°	17°		
Weisser, feuchter Belag	Weisslichgelber, feuchter Belag	Gelber, feuchter Strich	Berolinensis	Nach dem 1. Tag
»	»	Gelbweiss, feucht	Chol.	
Gelb schmierig,	Gelblichweiss	Gelber, feuchter Strich	Berolinensis	Nach dem 2. Tag
Gelbbraun schmierig	»	Gelbweiss feucht	Chol.	

Nach dem 4. Tage unbrauchbar wegen einer Verunreinigung.

Essigsäure-Kartoffeln.

37°	25°	17°		
Weiss, feucht	Gelblich weiss, feucht	Gelblich weiss, feucht	Berolinensis	Nach dem 1. Tag
»	»	»	Chol.	
Dicker weissgelber Belag	Gelblich, feucht	Gelblich, mattglänzend	Berolinensis	Nach dem 2. Tag
do. noch weisser	Weissgelb	Weisslich, feucht	Chol.	
Schmierig gelbbraun	Weiss	—	Berolinensis	Nach dem 4. Tag
Weiss, mattglänzend	»	—	Chol.	

Kochsalz-Kartoffeln.

37°	25°	17°		
Gelber, feucht glänzender Belag	Gelb, matt glänzend	Nichts deutlich sichtbar	Berolinensis	Nach dem 1. Tag
Ebenso, weniger	»	»	Chol.	
Gelbbraun feucht	Gelbbraun feucht	»	Berolinensis	Nach dem 2. Tag
»	»	»	Chol.	
Gelbbr. Centrum, weisser Hof	Weissgelb feucht	—	Berolinensis	Nach dem 4. Tag
Gelbbraun	»	—	Chol.	

Nach 48 Stunden fand Abimpfung von den Kartoffeln und Untersuchung im hängenden Tropfen statt. Ueberall fanden sich bewegliche Kommabacillen.

Zur sicheren Differential-Diagnose ist demnach die Kartoffel nicht zu gebrauchen.

B. Flüssige Nährböden.

Gewöhnliche, stark alkalische Bouillon wird vom Vibrio Berolinensis bei Zimmertemperatur und bei Bruttemperatur schneller und intensiver getrübt, als vom Cholera-Vibrio. Ein weisses, derbes Häutchen an der Oberfläche entsteht bei beiden etwa nach 48 Stunden Brutschrank.

In Pankreas-Bouillon[1]) ist das Wachsthum ein sehr intensives, noch intensiver als bei Cholera (bei Zimmer- und Brut-Temperatur).

Ein sehr günstiger Nährboden ist ferner das 1%ige Peptonwasser. (1% Pepton, 1% Kochsalz).

In sterilem Wasser trat nach 6tägigem Verweilen im Brutschrank weder bei Cholera noch bei Berolinensis eine wesentliche Trübung auf. Es wurde deshalb bei beiden nach dem sechsten Tage (bei 37°) steriles 1%iges Peptonwasser aufgegossen. Nach abermals 48 Stunden war bei dem Berolinensis-Röhrchen Trübung aufgetreten, während das Cholera-Röhrchen klar blieb. Durch die Untersuchung im hängenden Tropfen waren in der Berolinensis-Cultur bewegliche Vibrionen nachweisbar, in der Cholera-Cultur nicht. Und auch nur die Berolinensis-Cultur gab die Indolreaction. Der V. Berolinensis hatte sich also in diesem Falle in sterilem Wasser sechs Tage (bei 37°) fortpflanzungsfähig erhalten, der V. Cholerae nicht.

In steriler Milch trat bei beiden keine Gerinnung oder wesentliche Säuerung gegenüber der nichtinficirten Milch auf.

Es wurden ferner vier Gärungskölbchen mit Traubenzucker-Bouillon gefüllt, und nach der Sterilisirung zwei mit Berolinensis, zwei mit Cholera inficirt. Ein Paar dieser Kölbchen wurde in den Brutschrank gestellt, das andere bei Zimmertemperatur (20—22°) gelassen. Eine Gasentwickelung wurde in diesen Kölbchen noch nach 11 Tagen nicht gesehen. Es zeigte sich in den ersten Tagen bei Berolinensis eine stärkere Trübung des Gesammtinhalts, bei Cholera eine schwächere Trübung, aber ein dichter Bodensatz an der Umbiegungsstelle der Kölbchen.

Im Liborius'schen Röhrchen (gefüllt mit Traubenzucker-Bouillon) nach Wasserstoffdurchleitung tritt nach 24 Stunden mässig starke Trübung, Anfang von Bodensatzbildung auf, nach

1) Karlinsky, Centralbl. f. Bact., 1890, Bd. VIII; 200 g Pankreas vom Rinde, nach Fettentnahme gewiegt und gewogen, werden mit 500 ccm Wasser begossen, 24 Stunden am kühlen Orte stehen gelassen, abfiltrirt, mit 20 g Pepton. siccum zu Bouillon gekocht, neutralisirt, sterilisirt.

drei Tagen sind keine lebendigen Vibrionen nachweisbar. Schliesslich wurden noch frische, rohe Eier nach der Hiller'schen Methode inficirt. Also Reinigung der Eier an der Spitze, Begiessen mit Sublimat, Abspülen mit sterilem Wasser, Trocknen mit sterilem Wattebausch, Oeffnen mit sterilem Instrument, Impfung mit der Nadel durch die ganze Länge des Eies und Verschluss der feinen Oeffnung mit sterilem Seidenpapier und Collodium. Nach drei Tagen sind durch das Plattenverfahren lebende Berolinensis-Keime nachzuweisen.

Zwei Resistenzversuche wurden folgendermaassen angestellt: Von einer 24stündigen Berolinensis-Bouilloncultur wurde eine Oese entnommen und zur Anlegung von Platten verwendet. Hierauf wurde die Bouilloncultur in ein Wasserbad mit der constanten Temperatur 60° C. gesetzt, hin und her bewegt, danach schnell abgekühlt und nun wieder eine Oese entnommen und zur Platte verwendet. Auf den Platten, die vor der Erwärmung angelegt worden, waren sehr zahlreiche Colonien, auf den Platten nach der Erwärmung keine einzige Colonie entstanden.

Ferner wurden Proben einer frischen Bouilloncultur entnommen, Petrischalen davon gegossen, und diese einer constanten Temperatur von 10° ausgesetzt. Auch nach drei Tagen war keine Spur einer Colonieentwickelung zu sehen.

Der V. Berolinensis ist also nach einer fünf Minuten langen Erwärmung auf 60° und bei 10° entwickelungsunfähig.

III. Nitrosoindol-Reaction.

Die Indol-Reaction ist zur Differential-Diagnose frischer V. Chol. as. und Vibrio Berolinensis nicht verwerthbar, da irgend ein constanter Unterschied in dem Auftreten der Reaction nicht besteht.

Zur Indolreaction wurde reine, stark verdünnte Schwefelsäure, in einzelnen Fällen auch Salzsäure verwendet. Das Pepton (Pepton. sicc. extr.) stammte von Hesterberg[1]) und zeigte sich

1) Berlin N. W., Luisenstr. 89.

so stark alkalisch, dass eine weitere Alkalisirung des Peptonwassers überflüssig wurde. Das Peptonwasser erwies sich als Nährboden und als Medium für die Reaction durch die stets positiven Resultate bei Cholera und Metschnikoff und die stets negativen bei vielen anderen Bacterien als zuverlässig. Steriles Peptonwasser erfährt durch Zusatz verdünnter Schwefelsäure keine Farbenveränderung.

Der Vibrio Berolinensis liefert nun, in Peptonwasser 24 Stunden bei 37° (aber auch bei Zimmertemperatur) gezüchtet, die Reaction ebenso schön, wie die entsprechende Choleracultur. In älteren Culturen ist die Farbe noch schöner. Einmal war schon eine schwache Reaction nachweisbar in einer Peptonwasser-Cultur des V. Berolinensis, die fünf Stunden lang bei Zimmertemperatur gestanden hatte. Auch in Pankreas-Bouillon ist die Reaction sehr schön, weniger gut und zuverlässig in gewöhnlicher Pepton-Bouillon. Vorzüglich ist sie, wenn auch etwas später auftretend, auf der Agarplatte, auf deren erstarrter Oberfläche eine Aufschwemmung des Vibrios ausgestrichen ist, und auf dem schräg erstarrten Agar. Auch im verflüssigten Gelatinestich ist sie hervorzurufen. Auf allen erwähnten Nährböden tritt die Reaction in wenigen Minuten ein und erreicht bald ihr Maximum. Einmal habe ich in einer drei Tage alten Pankreasbouillon-Cultur (37°), die eine prachtvolle Reaction geliefert hatte, nach Verlauf von einigen Stunden eine nachträgliche Entfärbung gesehen.

Sehr gut war auch die Reaction in dem keimfreien Filtrat einer Peptonwassercultur, das mit Hilfe eines Bacterienfilters hergestellt war. Züchtet man in diesem Filtrat noch den Vibrio etwa zwei Tage, so hat man damit das beste Object für die Indol-Reaction.

IV. Thierversuche.

Es wurde bereits oben erwähnt, dass das negative Resultat einer Impfung, die mit der vermeintlich in dem Wasser gefundenen Cholera angestellt wurde, zur Auffindung des Vibrios führte. Es kann hier hinzugefügt werden, dass der Vibrio ungiftig für Mäuse, Kaninchen, Tauben ist.

Es wurden von jeder Thiersorte zwei Thiere mit Berolinensis geimpft. Zwei weisse Mäuse und zwei Feldmäuse wurden mit je einer Oese einer 24 Stunden alten Agar-Cultur in einer Hauttasche der Rückenhaut inficirt, zwei Tauben mit je 1 ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur in den Brustmuskel geimpft. Zwei Meerschweinen wurde je 1 ccm Bouillon, in dem eine Oese einer 24 stündigen Agarcultur aufgelöst war, intraperitoneal einverleibt, zwei anderen Meerschweinen je $2^1/_2$ ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur ebenfalls intraperitoneal eingespritzt. Und schliesslich werden noch zwei Meerschweinen je 5 ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur per Schlundsonde gegeben, nachdem ihnen vorher 0,4 Tinct. opii intraperitoneal und 5 ccm einer 5 procentigen Sodalösung per Schlundsonde einverleibt waren. Ausserdem wurden noch zwei Kaninchen mit je 2 ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur intraperitoneal geimpft. — Keines von diesen 14 Thieren starb oder zeigte wesentliche Krankheitssymptome.

Erwähnt werden muss noch das Resultat eines Thierversuches, der mit einer voll virulenten (Massaua)-Choleracultur angestellt wurde. Das mit Cholera intraperitoneal (eine Oese Agarcultur in 1 ccm Bouillon) geimpfte Meerschwein starb innerhalb 20 Stunden nach starkem Temperaturabfall. Zwei andere, mit Berolinensis intraperitoneal geimpfte (je zwei Oesen Agarcultur in $1^1/_2$ ccm Bouillon) starben aber auch innerhalb 30 und 40 Stunden unter ähnlichen Erscheinungen. Am Darm war in allen drei Fällen keine Perforation zu entdecken. In dem getrübten Exsudat aller drei Fälle waren aber durch Ausstrich auf Agar neben Vibrionen Coccen nachweisbar, bei dem einen Berolinensis-Thier desgleichen im Herzblut. Diese Versuche waren also noch nicht ganz einwandsfrei.

In einem anderen Falle starb das Cholera-Meerschwein, dem eine Agar-Oese (in 1 ccm Bouillon aufgelöst) intraperitoneal injicirt war, innerhalb 20 Stunden und zeigte bei der Section ein in jeder Beziehung charakteristisches Bild. Ein zweites Meerschwein, mit einer Agar-Oese Berolinensis (in 1 ccm Bouillon aufgelöst) intraperitoneal geimpft, starb in derselben Zeit und

zeigte genau dasselbe Bild. Im Peritonealexsudat, sowie im Herzblut war durch Ausstrich auf Agar Berolinensis in Reincultur nachweisbar. Weitere Thierversuche müssen noch über die Pathogenität des Berolinensis näheren Aufschluss geben.

Leider war es mir durch meine Abreise von Berlin nicht möglich, diesen wichtigen Theil meiner Untersuchung weiter zu führen; wie mir aber mitgetheilt wird, sind im hygienischen Institute die Untersuchungen über die Virulenz des Vibrio weiter aufgenommen worden. Es hat sich herausgestellt, dass Berolinensis keine geringere Virulenz besitzt, als die hoch virulenten Massauaculturen. Ueber die weiteren Ergebnisse wird in diesem Archiv Mittheilung erfolgen.

V. Wasseruntersuchungen.

Es ist mir bei ferneren Untersuchungen des filtrirten und unfiltrirten Stralauer Wassers, sowie des unfiltrirten Spreewassers während des Monats Juli nicht geglückt, den Organismus nochmals zu finden.

Es wurden nur weiterhin Versuche gemacht, einem keimreichen Wasser absichtlich Berolinensiskeime und Cholerakeime zuzusetzen, in der Art, dass einem Kolben nur Berolinensiskeime, einem zweiten nur Cholerakeime, einem dritten beide Sorten zugesetzt wurden, während ein vierter als Controlkolben diente. Es kann gleich hier gesagt werden, dass sich die Cholerakeime auf keine Weise wiederfanden, während die Berolinensiskeime in den beiden Kolben, in denen sie zugesetzt waren, auf zwei Weisen wiedergefunden wurden.

Versuchsanordnung: Frisches Spreewasser war in steriler Flasche aufgefangen worden. Die weiterhin benutzten Kolben waren sterilisirt.

1. 100 Wasser + 1 % Pepton + 1 % Kochsalz.
2. 100 » + 1 » » + 1 » » + 1 Oese einer 24stündigen Cholera-Bouilloncultur.
3. 100 Wasser + 1 % Pepton + 1 % Kochsalz + 1 Oese einer 24stündigen Berolinensis-Bouilloncultur.

4. 100 Wasser + 1 % Pepton + 1 % Kochsalz +
1 Oese Cholera
1 Oese Berolinensis } einer 24stündigen Bouilloncultur.

Nach 21 Stunden Bruttemperatur wurde von der Oberfläche der 4 Kolben je 1 Oese abgeimpft und auf der Oberfläche einer in der Petrischale erstarrten Agarmasse ausgestrichen, ferner wurde noch eine Oese von jedem Kolben zum Zwecke der Anlegung von Gelatineplatten (1 Original, 2 Verdünnungen) abgeimpft. Die Agarschalen kommen in den Brutschrank.

24 Stunden nachher wurden die Gelatineplatten besichtigt:

Auf Platte 1[1]) (aus Kolben 1 stammend) finden sich keine choleraähnlichen Colonien, wohl aber Colonien, die genau wie die Berolinensiscolonien aussehen. Sie wurden abgeimpft und in 1 % Peptonwasser verpflanzt.

Auf Platte 2 (aus Kolben 2 stammend) zeigen sich wenige choleraähnliche und viele berolinensisähnliche Colonien. Von beiden Sorten werden einzelne abgeimpft und in Peptonwasser verpflanzt.

Auf Platte 3 sind keine choleraähnlichen, aber sehr viele berolinensisähnliche Colonien. (Abimpfung in Peptonwasser.)

Auf Platte 4 keine choleraähnlichen, viele berolinensisähnliche Colonien. (Abimpfung in Peptonwasser.)

Nach weiteren 24 Stunden wurde aus den Peptonwasserröhrchen eine Oese entnommen, die dann, falls der Inhalt des Röhrchens auf Zusatz reiner verdünnter Schwefelsäure die Rothreaction gab, wieder zur Anlegung von Gelatineplatten verwandt wurde. Es zeigte sich nun, dass von den Peptonröhrchen, die von den Platten 1 und 2 (also von den Kolben 1 und 2) stammten, keines die Indolreaction gab, dass also trotz des Auftretens von berolinensisähnlichen und choleraähnlichen Colonien diese beiden Organismen nicht gefunden waren. Wohl aber trat die Reaction in Peptonröhrchen auf, die von den Platten 3 und 4 (also aus

---

1) Von allen Platten waren nur die 2. Verdünnungen brauchbar.

den Kolben 3 und 4) stammten. Und das angeschlossene Plattenverfahren ergab, dass der wiedergefundene Organismus nur der Vibrio Berolinensis war.

Resultat: Mittels des Gelatineplattenverfahrens war

in dem Kolben, dem zugesetzt war:	wiedergefunden worden:
Nichts	Nichts
Cholera	Nichts
Berolinensis	Berolinensis
Berolinensis + Cholera	Berolinensis.

Ausserdem waren berolinensisähnliche und choleraähnliche Colonien aufgetreten, die nicht von Berolinensis resp. Cholera herrührten.

An demselben Tage, an dem die Gelatineplatten besichtigt wurden, wurden auch die Agarschalen untersucht und verdächtige Colonien (nach Vibrionenbefund) in Peptonwasser verimpft. Am folgenden Tage wurden die Peptonröhrchen wie beim Gelatineplattenverfahren weiter untersucht. Das Resultat war genau das gleiche. Ich verweise daher auf das Resultat des Gelatineplattenverfahrens. In Kolben 1 und 2 fanden sich übrigens auch nach 48 Stunden weder Berolinensis noch Cholera.

Der Versuch hat also gezeigt, wie wichtig der Vibrio Berolinensis als Concurrent des Choleravibrio bei Wasseruntersuchungen werden kann.

Noch in einem andern Punkte war der Versuch lehrreich. Es war nämlich nach der letzten Abimpfung von den Kolben (also bei 1 und 2 nach 48, bei 3 und 4 nach 24 Stunden) zu dem Gesammtinhalt der Kolben mässig verdünnte, reine Schwefelsäure zugesetzt worden, und es entstand bei keinem eine Spur der Rothfärbung, trotzdem mit Sicherheit aus Kolben 3 und 4 der die Reaction liefernde Vibrio Berolinensis gezüchtet war. Es ist demnach das negative Resultat der so angestellten Indolprobe kein Beweis für das Fehlen von Organismen, die in Reincultur die Reaction liefern. Ich würde das nicht besonders erwähnt haben, wenn nicht noch in neueren Arbeiten auf die

so angestellte Indolreaction Werth gelegt worden wäre. So gibt Arens in einer Arbeit[1]), in der er über den Nachweis von Cholerakeimen im Wasser berichtet, als den einen seiner Beweise für das Wiederfinden der Cholerakeime an, dass die untersuchten Wasserkolben auf Zusatz reiner Schwefelsäure die Rothfärbung gaben. Und Stutzer und Burri[2]) führen auch die so angestellte Indolreaction (die allerdings bei Controlkolben desselben Wassers ausblieb) als Beweis für das Vorhandensein von Cholera an. Dass schon aus theoretischen Gründen der so angestellten Indolreaction kein Werth beizumessen sei, ist einleuchtend. Die salpetrige Säure kann von dem einen Organismus, das Indol von einem anderen producirt sein, und nur die gleichzeitige Production (bei Bruttemperatur) zeichnete Cholera und Metschnikoff aus. Jetzt, nachdem sich der neue Organismus im Wasser gefunden hat, besteht ein neuer Grund, die Indolreaction, die auf Zusatz von Schwefelsäure zu einem Wasser entsteht, als für Cholera absolut nicht beweisend anzusehen.

Ich habe denn auch schon vor der Auffindung des Vibrios in einem Kolben (100 Leitungswasser, 1 % Pepton, 1 % Kochsalz), der 24 Stunden bei 37° gestanden hatte, auf Schwefelsäurezusatz eine Rothfärbung erhalten. So wenig Werth aber dem positiven Resultat einer solchen Indolprobe beizulegen ist, genau so wenig ist es, wie schon bemerkt, dem negativen; es haben also auch die erwähnten Controlproben nichts Beweisendes.

Zum Schlusse hätte ich noch hinzuzufügen, was aus dem Funde für die Wasseruntersuchung folgt, und zwar für die Wasseruntersuchung auf Cholera, wenn sie nach dem erwähnten Koch'schen Schema erfolgt. Die erste Schwierigkeit bietet das Abimpfen von Wasserkolben. Nach Koch muss es geschehen, nachdem die Kolben 10, 15, 20 Stunden im Brutschrank gestanden haben, und zwar aus dem Grunde, weil man sehr wohl an dem einen Termin ein positives, an dem andern ein negatives

1) Münchener medicin. Wochenschr., 1893, Nr. 10.

2) Festschrift des niederrhein. Vereins f. öffentl. Gesundheitspflege und des Centralbl. f. allgem. Gesundheitspflege zu M. v. Pettenkofer's 50jähr. Doctorjubiläum.

Resultat haben kann. Es ist nun leicht auszurechnen, dass diese Termine bei einer längeren Untersuchungsreihe kaum einzuhalten sind.

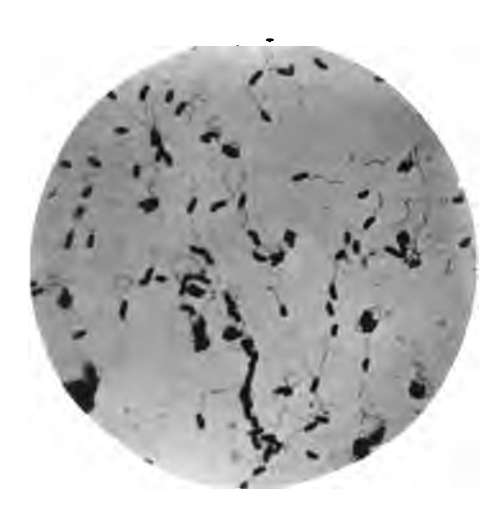
Im Verlaufe des Verfahrens wäre aber nur ein Punkt, der eine Differential-Diagnose zwischen Cholera und Berolinensis zuliesse, der Thierversuch. Weder auf der Agarplatte, noch durch das mikroskopische Bild, noch durch die Indolreaction sind die Vibrionen zu unterscheiden. Aber auch der Thierversuch lässt, wie wir gesehen haben, im Stich. Uebrigens wissen wir von anderen pathogenen Organismen, z. B. von denen der Diphtherie, wie schwankend in ihrer Virulenz Laboratoriumsculturen, die nicht ab und zu den Thierkörper passiren, sind.

Inwieweit sich der Thierversuch bei Wasseruntersuchungen, die in choleradurchseuchten Orten angestellt werden, als zuverlässig erweist, bleibt abzuwarten. Zu bedenken ist hierbei, dass die Cholerakeime nicht unmittelbar nach dem Passiren des Körpers untersucht werden, sondern nachdem sie kürzere oder längere Zeit im Wasser gelebt und sich fortgepflanzt haben. Ob sie auch dann noch ihre volle, vorschriftsmässige Giftigkeit gegen Meerschweine besitzen, kann a priori nicht gesagt werden.

Wesentlicher aber als der Thierversuch scheint mir die Gelatineplatte zu sein, und ich glaube, dass die Gelatineplattencultur in das Koch'sche Schema als wesentlich wird eingefügt werden müssen; allerdings nicht am Anfang, sondern am Schluss des Verfahrens. Wer also nach dem Koch'schen Schema Cholera-Wasseruntersuchungen machen will, hat so zu verfahren: Das Ansetzen der Kolben, das Abimpfen, das Ausstreichen auf der Agarschale und das Uebertragen der choleraverdächtigen Colonien in Peptonwasser bleibt dasselbe. Nun ist aber von den Peptonröhrchen eine Oese zu entnehmen und, bei positivem Ausfall der Indolprobe, in Gelatine zur Herstellung von Platten zu übertragen. Zeigen die Platten nur Choleracolonien, so ist die Untersuchung beendet, wo nicht, so ist Abimpfung der choleraähnlichen Colonien, Uebertragung in Peptonwasser und nochmals Indolprobe nötig. Eventuell kann noch der Thierversuch angeschlossen werden.



1. *Vibrio Berolinensis*, Ausstrichpräparat einer eintägigen Agarcultur, Fuchsinfärbung. 1000 : 1.



2. *Vibrio Berolinensis*, Agarcultur, Löffler'sche Geisselfärbung. 1000 : 1.



3. *Vibrio Berolinensis*, 2 Tage alte Gelatineplattencolonien. 100 : 1.



4. *Vibrio cholerae asiaticae*, 2 Tage alte Gelatineplattencolonien (unter denselben Bedingungen, wie die Colonien Fig. 3 gezüchtet). 100 : 1.

Photogramme: Privatdocent Dr. C. Günther Berlin. Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

Am Schlusse dieser Arbeit sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. M. Rubner und Herrn Priv.-Doc. Dr. C. Günther für ihre überaus gütige Anregung und Förderung meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Die beigegebenen Photogramme hat Herr Priv.-Doc. Dr. C. Günther, theilweise nach eigenen Präparaten, aufgenommen. Für seine viele Mühe, sowie für die liebenswürdige Ueberlassung der Platten bin ich ihm zu grossem Danke verpflichtet.

Weitere Studien über den Vibrio Berolinensis.

Von

Dr. Carl Günther,

Privatdocent, Assistent am Institut.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

In Folgendem soll über eine Reihe von Versuchen berichtet werden, welche ich zu dem Zwecke unternahm, die Eigenschaften des von Herrn M. Neisser entdeckten und in der vorhergehenden Arbeit beschriebenen Vibrio Berolinensis nach einigen Richtungen hin genauer zu studiren.

Dass dem genannten Vibrio für Meerschweinchen pathogene Eigenschaften zukommen, hatte bereits Herr Neisser festgestellt. Er hatte gefunden, dass die Meerschweinchen nach intraperitonealer Einverleibung der Culturen bisweilen unter Temperaturabfall zu Grunde gehen, und dass sich aus dem Inhalt der Bauchhöhle und bisweilen auch aus dem Herzblut der Vibrio Berolinensis in Cultur wiedergewinnen lässt. Einige Versuchsserien, welche ich über die intraperitoneale Meerschweinchen-infection angestellt habe, sollten nun vor Allem über die Höhe der tödtlichen Minimaldosis genauere Auskunft geben.

Es wurden in dieser Hinsicht fünf verschiedene Serien, jede zu drei Versuchen angestellt. Zu jeder Serie wurden drei bisher ungebrauchte, neu angekaufte Thiere benützt, welchen verschieden hohe Dosen der Cultur intraperitoneal beigebracht wurden. Die benützten Culturen waren in jedem Falle Oberflächen-Agarculturen,

welche 24 Stunden im Brütschrank gewachsen waren. In Benützung des von R. Pfeiffer[1]) für die intraperitoneale Cholerainfection der Meerschweinchen angegebenen Verfahrens wurde das Bacterienmaterial mit Hilfe einer bestimmten (in allen Versuchen einer und derselben) Platinöse von etwa 2½ mm Durchmesser von der Agarfläche entnommen. Es wurden bei jeder Versuchsserie 3 volle Platinösen mit 3 ccm steriler Bouillon sorgfältig (bis zu homogener Trübung) vermischt, und es wurden dann die resultirenden 3 ccm Aufschwemmung auf die 3 Thiere so vertheilt, dass ein Thier ½ ccm, die anderen beiden 1 resp. 1½ ccm intraperitoneal injicirt erhielten.

Bezüglich der Resultate dieser Thierversuche ist zu berichten, dass die zweite bis fünfte Serie ein durchaus eindeutiges Ergebnis geliefert haben: Ist die einverleibte Dosis im Verhältnis zu dem jeweiligen Körpergewicht des Meerschweinchens gross genug, so geht das Thier unter rapidem Temperaturabfall in weniger als 24 Stunden zu Grunde. Ist die Dosis etwas geringer, so folgt zwar auch Temperaturabfall und Tod; aber der Temperaturabfall vollzieht sich langsamer, der Tod tritt später, in zwei bis mehreren Tagen, ein. Bei noch niedrigerer Dosis kann der Temperaturabfall ein vorübergehender sein; das Thier kann sich wieder völlig erholen. Diese Erscheinung wird jedoch seltener beobachtet; gewöhnlich folgt auf die Einverleibung einer niedrigen Dosis kein bemerkbares Kranksein des Thieres. Als tödtliche Minimaldosis für ein Thier von 300 bis 400 g Gewicht kann nach diesen Versuchen eine Oese der 24 Stunden alten Agarcultur gelten.

Die genannten Ergebnisse betreffen, wie gesagt, die zweite bis fünfte Serie meiner Versuche. Die erste Serie verhält sich insofern abweichend, als hier die Wirkung der Infection eine erheblich schwächere war. Es ging hier nur eines der Thiere, welches sich bei der Section als gravida erwies, zu Grunde, während die beiden anderen Thiere, darunter eines, welches von erheblich geringerem Körpergewichte als das zu Grunde Gegangene war und dabei eine grössere Dosis der Cultur einverleibt erhalten

1) Zeitschr. f. Hyg., Bd. XI, 1892.

hatte, nicht erkrankten. Was für Gründe das abweichende Verhalten dieser Serie bedingt haben, ist nicht ermittelt worden. Jedenfalls möchte ich den Resultaten derselben neben dem übereinstimmenden Ergebnis der anderen Serien keinen entscheidenden Werth beilegen.

Bei der Section der gestorbenen Thiere wurde (in den verschiedenen Versuchen übereinstimmend) Folgendes gefunden: In der Bauchhöhle eine geringe Menge trüber, schmutzigröthlichbrauner Flüssigkeit, welche mikroskopisch zahlreiche, theils freie, theils in Eiterzellen eingeschlossene Vibrionen enthielt. Ausserdem fanden sich hier und da fibrinös-eitrige Beschläge auf der Serosa der Bauchorgane, namentlich der Leber, welche mikroskopisch vibrionenhaltige Eiterzellen in grossen Massen aufwiesen. In einigen, aber nicht in allen Fällen fand sich eine blutig-ödematöse Durchtränkung des subcutanen Gewebes um die Infectionsstelle herum. Das Herz war in allen Fällen von geronnenem Blute erfüllt. In einigen, nicht in allen Fällen wurden die Vibrionen in dem Herzblute durch den Culturversuch aufgefunden. Aus dem peritonitischen Exsudate gelingt es jedesmal, die Vibrionen zu cultiviren.

Tabelle I.

Serie	Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
I.	1.	370 g	1/2 Oese 1. VIII.	Negativ	
	2.	375 g	1 Oese 1. VIII. Vorm.	† 2. VIII. Vorm.	Fünfmarkstückgrosses blutiges Oedem um die Infectionsstelle herum. Thier gravida. In der Bauchhöhle eine kleine Quantität einer trüben hellröthlichen Flüssigkeit, in welcher sich mikroskopisch Kommabacillen finden. Eitrige Beschläge hier und da auf der Serosa, namentlich der Leber. Die Eiterzellen enthalten vielfach (meist abgestorbene) Kommabacillen. Im Herzblut mikroskopisch (und ebenso durch Cultur) keine Bacterien nachweisbar. Aus dem peritonit. Exsudat wird der Vibrio Berolinensis in Reincultur gewonnen.
	3.	285 g	1 1/2 Oese 1. VIII.	Negativ	

Fortsetzung der Tabelle I.

Serie	Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
II.	1.	280 g	1/2 Oese 2. VIII. Mittags	3. VIII. Morgens todt gefunden	Nach der Infection rapider Temperaturabfall. Rectaltemperatur 6 Stunden nach der Infection unter 34° C. Section: Leichtes subcutanes Oedem an der Infectionsstelle. Trübes, serös-eitriges Exsudat in der Bauchhöhle. In dem subcutanen Oedem sowohl, wie in dem peritonitischen Exsudat mikroskopisch Kommabacillen. Aus dem peritonitischen Exsudat sowohl wie aus dem Herzblut wird der Vibrio Berolinensis in Reincultur erhalten.
	2.	280 g	1 Oese 2. VIII. Mittags	Wie II, 1.	Wie II, 1.
	3.	230 g	1½ Oese 2. VIII. Mittags	Wie II, 1.	Wie II, 1.
III.	1.	540 g	1½ Oese 3. VIII. Mittags	5. VIII. Morgens todt gefunden	Nach der Infection langsamer Temperaturabfall. Rectaltemperatur 20 Stunden nach der Infection unter 34° C. Sectionsbefund wie II, 1. Aus dem Herzblut gelingt es nicht, den Vibrio Berolinensis zu cultiviren.
	2.	450 g	1 Oese 3. VIII. Mittags	Wie III, 1.	Wie III, 1.
	3.	360 g	1/2 Oese 3. VIII. Mittags	† 5. VIII. Vorm.	Wie III, 1.
IV.	1.	720 g	1½ Oese 4. VIII. Mittags	† 5. VIII. Vorm.	Nach der Infection langsamer Temperaturabfall. Rectaltemperatur 16 Stunden nach der Infection unter 34° C. Aus dem Herzblut wird der Vibrio Berolinensis gezüchtet.
	2.	530 g	1 Oese 4. VIII. Mittags	8. VIII. Morgens todt gefunden	Nach der Infection sehr langsamer Temperaturabfall. Rectaltemperatur 48 Stunden nach der Infection 34,5° C., 72 Stunden nach der Infection 34,7° C.
	3.	445 g	1/2 Oese 4. VIII. Mittags	Negativ	
V.	1.	780 g	1½ Oese 4. VIII. Mittags	6. VIII. Morgens todt gefunden	Langsamer Temperaturabfall. Rectaltemperatur 6 Stunden nach der Infection 38,5° C., 20 Stunden nach derselben 35,0° C.

Fortsetzung der Tabelle I.

Serie	Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
	2.	560 g	1 Oese 4. VIII. Mittags	Mässige Erkrankg. Genesung	Langsamer Temperaturabfall nach der Infection. Rectaltemperatur 20 Stunden nach der Infection 36,1° C., 30 Stunden nach derselben 36,2° C. Dann wieder Erholung des Thieres (44 Stunden nach der Infection wieder 38,2° C.)
	3.	490 g	½ Oese 4. VIII. Mittags	Negativ	

Aus den geschilderten Thierversuchen geht hervor, dass der Vibrio Berolinensis in seiner Wirkung auf Meerschweinchen bei intraperitonealer Einverleibung eine zum Verwechseln grosse Aehnlichkeit mit dem Vibrio der Cholera asiatica besitzt. Eine vergleichende Versuchsreihe (Serie VI) spricht ebenfalls in diesem Sinne. Es wurden zu dieser Serie vier Meerschweinchen benützt, von denen zwei mit Vibrio Berolinensis, zwei mit einer Choleracultur inficirt wurden, welche von Dr. Pasquale aus Massaua stammt. Das letztere Material verdanke ich meinem Collegen, Herrn Stabsarzt Dr. Bonhoff.

Tabelle II.

Serie	Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
VI.	1.	825 g	1½ Oese Vibrio B. 11. VIII. Mittags	Negativ	
	2.	420 g	⅔ Oese Vibrio B. 11. VIII. Mittags	12. VIII. Morgens todt gefunden	Rapider Temperaturabfall. Rectaltemperatur 6 Stunden nach der Infection 34,7° C.
	3.	535 g	1 Oese Massaua-Cholera 11. VIII. Mittags	12. VIII. Morgens todt gefunden	Rapider Temperaturabfall. Rectaltemperatur 6 Stunden nach der Infection 34,5° C.
	4.	330 g	⅔ Oese Massaua-Cholera 11 VIII. Mittags	Negativ	

Diese Versuchsreihe zeigt, dass der Vibrio Berolinensis der benützten Massaua-Choleracultur an Giftigkeit nichts nachgibt.

Der Vibrio Berolinensis hat in der That eine ausserordentlich weitgehende Aehnlichkeit mit dem Choleravibrio. Dieselbe drückt sich aber (abgesehen von der Form der Einzelzellen und der Gestalt und Anheftungsweise der Geisselfäden) nicht allein in der giftigen Wirkung auf den Meerschweinchenkörper und in dem positiven Ausfall der Nitrosoindolreaction aus, sondern der Vibrio Berolinensis besitzt auch, in Uebereinstimmung mit dem Choleravibrio, die Fähigkeit, bei der Concurrenz mit anderen Bacterienarten in den oberen Schichten der im Brütschrank gehaltenen Peptoncultur eine relative Vermehrung zu erfahren. Dieser Punkt ist es ja gewesen, der überhaupt zu seiner Auffindung geführt hat. Herr Neisser hat auch über einen Versuch berichtet, in welchem er den Choleravibrio und den Vibrio Berolinensis zusammen in Peptonwasser brachte; er beobachtete hier, dass der Vibrio Berolinensis den Choleravibrio in den oberen Flüssigkeitsschichten überwucherte: Es wurde nur der Vibrio Berolinensis wiedergefunden. Herr Neisser hatte in diesem Falle die Abimpfung der oberflächlichen Schichten der Peptoncultur nach etwa 20 Stunden vorgenommen. Es entstand nun die Frage, ob eine Ueberwucherung des Choleravibrio durch den Vibrio Berolinensis auch schon nach 10stündigem Aufenthalte im Brütschrank zu beobachten ist. (Koch[1]) hat bekanntlich angegeben, dass bei Benützung der Peptonvorcultur zum Zwecke des Nachweises des Choleravibrio die Abimpfung der oberflächlichen Flüssigkeitsschichten bereits 10 Stunden nach dem Anstellen der Cultur zu erfolgen hat.)

Um über diese Verhältnisse ins Klare zu kommen, stellte ich folgende Versuchsreihe an: Vier neue, ungebrauchte Medicinflaschen von c. 150 ccm Inhalt wurden mit Hilfe von Bürste und Leitungswasser sauber gereinigt, dann mehrere Stunden zum Trocknen umgekehrt hingestellt, und es wurde nun

Flasche A mit Massaua-Cholera,
» B » Vibrio Berolinensis,

1) Zeitschr. f. Hyg., Bd. XIV, 1893.

Flasche C mit Cholera von der 1892er Hamburger Epidemie,
» D » Vibrio Berolinensis und Hamburger Cholera gleichzeitig

inficirt. Das hierbei benützte Verfahren war Folgendes: Mit Hilfe einer kleinen Platinöse wurde eine Spur Material aus einer Agaroberflächencultur entnommen, der Platindraht wurde in den Hals der Flasche unter sorgfältiger Vermeidung einer Berührung der Glaswandungen eingeführt, und es wurde dann dicht über dem Boden der Flasche etwas von dem Material an die Flaschenwand angestrichen. Nachdem die vier Flaschen auf diese Weise inficirt waren, wurden in jede einzelne 100 ccm (unsterilisirtes) Leitungswasser eingefüllt, und es wurde dann so viel sterilisirte starke Peptonkochsalzlösung zugegeben, dass der Gesammtgehalt der Mischung 1% Pepton und 1% Kochsalz betrug. Die so beschickten Flaschen kamen (am 10. August, 9 Uhr abends) unverschlossen in den auf 37° C. eingestellten Brütschrank. Nach genau 10 Stunden (am 11. August, 7 Uhr morgens) fand sich in sämmtlichen vier Flaschen auf der Oberfläche der ganz wenig opalisirenden Flüssigkeit ein ausserordentlich dünnes, kaum bemerkbares Häutchen. Die Existenz desselben war eigentlich nur daran zu erkennen, dass sich beim Bewegen der Flüssigkeit an der Glaswandung, dicht über der Flüssigkeitsgrenze, eine leichteste zusammenhängende Trübung bemerkbar machte. Es wurde nun aus jedem Glase, und zwar aus der alleroberstenFlüssigkeitsschicht, eine Platinöse voll der Flüssigkeit entnommen und mit ca. 10 ccm geschmolzener Nährgelatine vermischt. Von dieser Mischung wurden in üblicher Weise Verdünnungen angestellt, und die so inficirte Gelatine wurde zu Platten ausgegossen.

Das Resultat dieser Versuche war Folgendes: Auf den Platten des Gefässes *A* wurden ausschliesslich die (stark verflüssigenden) Colonien der Massaua-Cholera wiedergefunden; auf den Platten *B* entwickelten sich ausschliesslich die kreisrunden, durchsichtigen, fetttröpfchenähnlichen Colonien des Vibrio Berolinensis; auf den Platten *C* kamen ausschliesslich die Colonien der Hamburger Cholera zur Entwickelung. Die Platten *D*, welche aus dem gleichzeitig mit Vibrio Berolinensis und mit Hamburger Cholera inficirten

Gefässe angelegt waren, zeigten Folgendes: Auf den ersten Blick machte es den Eindruck, als ob hier nur Colonien des Vibrio Berolinensis zur Entwickelung gekommen seien. Bei genauerem Zusehen fanden sich aber — allerdings neben den zahlreichen Berolinensiscolonien nur ganz vereinzelte — Colonien, welche das typische Gepräge der Hamburger Cholera zeigten. Die Identität der bei den eben geschilderten Versuchen zur Entwickelung gekommenen Berolinensiscolonien wurde übrigens durch Abimpfung und weitere Prüfung mit Sicherheit festgestellt.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass der Vibrio Berolinensis in derselben Weise wie der Choleravibrio auch bereits in den ersten Stunden der Peptoncultur eine Vermehrung in den oberen Flüssigkeitsschichten anderen Bacterien gegenüber erfährt, und dass er sogar hierbei günstigere Bedingungen findet als der Cholerabacillus.

Wenn es sich also darum handelt, in einem Wasser etwa vorhandene Choleravibrionen nachzuweisen, so wird man bei Anwendung der Vorculturmethode in Zukunft zwei Dinge zu bedenken haben: 1. Die etwa in den oberflächlichen Flüssigkeitsschichten sich anhäufenden Kommabacillen, welche auf Meerschweinchen giftig wirken und die Nitrosoindolreaction geben, brauchen nicht Cholerabacterien zu sein, sondern können dem Vibrio Berolinensis angehören. 2. Falls neben Cholerabacillen auch Zellen des Vibrio Berolinensis in dem zu untersuchenden Wasser vorhanden sind, so kann der Fall eintreten, dass man in den oberflächlichen Schichten der Culturflüssigkeeit nur den Vibrio Berolinensis, aber nicht den (von dem letzteren unterdrückten und überwucherten) Cholerabacillus findet. Es ist also durchaus nothwendig, neben der Vorcultur a priori Gelatineplatten anzulegen und auch aus den oberen Schichten der Vorculturflüssigkeit Gelatineplatten herzustellen.

Denn mit Hilfe der Gelatineplatte, an der Form der Gelatineplattencolonie, ist der Vibrio Berolinensis mit Sicherheit von dem Cholerabacillus zu unterscheiden. Junge (1—2 Tage alte) Colonien zeigen nicht wie die des Choleravibrio grobkörniges Gefüge, sondern sind erheblich viel feinkörniger, in der Durch-

sicht heller als die des Choleravibrio; der Rand ist nicht wie der der Choleracolonien unregelmässig höckerig, sondern meist absolut glatt und kreisrund, so dass die Colonien ein direct fetttröpfchenähnliches Aussehen darbieten; nur selten ist der Rand ganz wenig unregelmässig gestaltet. Mit zunehmendem Alter nehmen die Colonien (besonders die mehr isolirt liegenden, von einem grösseren Bezirke steriler Gelatine umgebenen) nach meiner Erfahrung gewöhnlich ein (heller oder dunkler) bräunliches Colorit an und bekommen dabei ein buckeliges, höckeriges, manchmal nahezu radiär gelapptes Aussehen; aber auch in diesem Stadium sind sie von Choleracolonien dadurch mit Sicherheit zu unterscheiden, dass das Gefüge der Buckel, Höcker und Lappen nicht grobkörnig, sondern feinkörnig ist. Die Colonien haben die Tendenz, über eine gewisse geringe Grösse nicht hinauszugehen. Die Gelatine wird sehr langsam verflüssigt, stets erheblich langsamer als durch den Choleravibrio.

Die weitere Untersuchung des Vibrio Berolinensis behalten wir uns vor.

Untersuchungen über den Bacteriengehalt des Badewassers.

Von

Dr. Max Edel.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Berlin.)

Einleitung.

Dass die Pflege des Badens in hygienischer Beziehung für die Gesundheit des Menschen von grösster Wichtigkeit ist, darauf hat man erst wieder in den letzten Jahrzehnten unseres Jahrhunderts die Aufmerksamkeit gelenkt, nachdem diese Erkenntnis lange geschlummert hatte. Dementsprechend nahm die Entwickelung der öffentlichen Badeanstalten in der letzten Zeit einen gewaltigen Aufschwung, der durch das Stadium der uns aus alter Zeit überkommenen und aufgefundenen Vorbilder von höchst vollendeten Badeanstalten bedeutend gefördert wurde. Vornehmlich stammen diese letzteren aus dem Zeitalter der Griechen und Römer, bei denen das Badewesen eine ganz hervorragende Rolle gespielt hat. Wohlerhaltene städtische Bäder sind in Pompeji und Herkulanum aufgedeckt worden. Kalte und warme Bäder (balneae), Schwimmbassins (piscinae), sowie Heissluft- und Wasserbäder (Thermen) waren in grosser Zahl vorhanden und in ausgiebiger Benutzung. Die Thermen des Caracalla geben Zeugnis von den enormen Dimensionen, der grossartigen Einrichtung und dem Luxus altrömischer Badeanstalten.

Später geriethen die antiken Anstalten in Vergessenheit und erst im Mittelalter gaben schlechte hygienische Verhältnisse den

Anlass zur besseren Pflege des Körpers und zur Entstehung von »Badestuben« mit Wannen- und Schwitzbädern. Nachdem in den zwei letzten Jahrhunderten die Heilbäder »Sauerbrunnen« in Blüthe standen, kam erst in unserem Jahrhundert das Baden als Volksgebrauch wieder auf.

England ging mit seinem Beispiel den anderen Staaten voran, indem es ebensosehr aus Bedürfnis nach öffentlichen Waschständen als nach Bädern mittels einer Parlamentakte vom Jahre 1846 die Errichtung öffentlicher Wasch- und Badeanstalten durch die Gemeinden zu finden suchte. Auf der Basis dieser Akte entstanden bald eine grosse Reihe von solchen Instituten mit Schwimmhallen. Andere Anstalten wurden durch allgemeine Aktien-, Subscriptions- und Clubunternehmungen gegründet.

In Frankreich[1]) folgte man dem Vorgehen Englands; im Jahre 1850 wurde durch ein Gesetz ein Credit von 600000 Frcs. zur Errichtung von Volksbädern eröffnet. Jedoch fehlten dem Gesetz die englischen Erfolge; noch heute lassen die französischen Badeanstalten viel zu wünschen übrig.

In Belgien wurde im Jahre 1879 das Brüsseler Schwimmbad der Société anonyme du bain royal in grossartigem Massstab angelegt.

Oesterreich hatte schon 1804 in Wien eine grosse auf Actien gebaute Badeanstalt, das Dianabad, welches 1842 seine jetzige Einrichtung erhielt. Dazu kam 1845 das Sophienbad.

Die ältesten hervorragenden deutschen »Bade- und Waschanstalten« wurden in Hamburg und Berlin 1855 gegründet. 1860 entstand eine ähnliche Anstalt in Magdeburg, 1867 die Badeanstalt in Hannover, 1869 das Sophienbad in Leipzig, 1874 das Admiralsgartenbad und 1877 das Kaiser-Wilhelmsbad, beide in Berlin. Die öffentliche Badeanstalt in Bremen wurde 1877 eröffnet, 1878 die Badeanstalt in Dortmund. In den folgenden Jahren entstanden schliesslich eine grosse Zahl von weiteren öffentlichen Badeanstalten in fast allen grösseren Städten Deutschlands.

---

1) **Marggraff**, Moderne Stadtbäder (Deutsche Zeit- und Streitfragen, Heft 163/164, S. 20).

Auf der 7. Versammlung des deutschen Vereins für öffentliche Gesundheitspflege zu Stuttgart (am 17. Sept. 1879) wurden von Meyer und Robertson in ihrem Referate über öffentliche Badeanstalten grundlegende Thesen vorgeschlagen, die Bedingungen betreffend, welche an öffentliche Badeanstalten gestellt werden müssten. Von diesen hebe ich nur folgende hervor: Oeffentliche gedeckte Volksbadeanstalten in Städten oder Stadtbezirken über 25000 Einwohner erfordern unabweislich Schwimmhallen zum continuirlichen Gebrauch für jeden Tag des Jahres.

Dieselben sind sorgfältig zu construiren, in solidem Material zu erbauen.

Beim Betrieb der Schwimmhalle ist peinlichste Reinlichkeit und Decenz zur Geltung zu bringen.

Das Bassinwasser muss während der Badestunden kräftig und continuirlich zufliessen, gleichmässig (22° C.) temperirt sein und in passenden Zeitintervallen erneuert werden.

Die Halle muss entsprechende Temperatur und gute Ventilation haben.

Ueberschüssige Grundfläche und Geldmittel sind in erster Linie zu Wannenbädern zu verwenden.

In diesen Thesen wurde also schon besonders auf die Nothwendigkeit der Schwimmhallen hingewiesen.

Noch stärker wurde diese von Marggraff betont, der in seiner Schrift: »Moderne Stadtbäder« ein Programm für den Bau und Betrieb rationeller Volksbäder aufstellte. Er sagt [1]):

»Wo Flüsse und geeignete Wasserläufe oder Binnenseen vorhanden sind, da wird wohl überall für Badegelegenheit im Freien gesorgt; meist aber liegen die Flussbäder ausserhalb des Weichbildes der Stadt und sind nur mit Unkosten und grösserem Zeitaufwand zu erreichen.

Wenn sie auch von nicht zu unterschätzendem Vortheil für die rauch- und staubschluckende Bevölkerung sind, so ist doch vor Allem zu berücksichtigen, dass dieselben in unserem Klima

1) Marggraff, Moderne Stadtbäder, S. 13, 14, 15.

mit seinen rapid wechselnden Temperatur- und Witterungsverhältnissen kaum den vierten Theil des Jahres mit wirklichem Genuss und Wohlbehagen zu kultiviren sind.

Die wahre Aufmunterung zu häufigem, regelmässigem, in keiner Jahreszeit unterbrochenem Gebrauch von Bädern und zur Pflege der Wassergymnastik, eine wahrhaft heilbringende Wirkung gewähren einzig und allein Stadtbäder mit allseits geschlossenen, gedeckten, heizbaren Schwimmhallen und stets gleichmässig temperirtem, constant zu- und abfliessendem Bassinwasser, weil sie dadurch unabhängig von Klima, Saison und Witterung sind.«

Diesen wiederholt ausgesprochenen Forderungen suchte man nach Möglichkeit bei der Einrichtung der neueren öffentlichen Badeanstalten zu entsprechen, von der ich in folgendem in einer kurzen Darstellung die wesentlichsten Punkte hervorheben will.

Das Wasser für die Bäder wird in der Regel der städtischen Wasserleitung entnommen. Andererseits ist filtrirtes Flusswasser und aufgepumptes Grundwasser in Gebrauch. In Badenweiler wird Quellwasser verwandt. In einigen Anstalten kommt noch unfiltrirtes Flusswasser in Anwendung, so in der öffentlichen Badeanstalt in Hannover[1]) und in der Wasch- und Badeanstalt in Hamburg[2]).

Winterbetrieb ist wohl an den meisten öffentlichen Badeanstalten bereits eingerichtet.

Die überbauten Schwimmhallen bilden den Schwerpunkt aller Volksbäder, daher den Kern, die Haupträume solcher Anlagen[3]). Sie sind hoch und nach Möglichkeit ventilirt. Zur Beleuchtung ist meist Gaslicht in Gebrauch, während sich das elektrische Licht nicht bewährt hat. (In Dortmund.)

Die Temperatur der Halle wird durch Heizung zwischen 14—16 ° R. gehalten.

Bei der Wahl der Baumaterialien wird Holz als schlechter Wärmeleiter dem Eisen für die Dachconstruction vorgezogen.

1) Meyer und Robertson, Zusammenstellung einiger wesentlicher Angaben über öffentliche Badeanstalten. (Congress des deutschen Vereins für öffentliche Gesundheitspflege, Stuttgart, September 1879, S. 14).

2) Ebenda, S. 6.

3) Marggraff, Moderne Stadtbäder, S. 31.

Das Schwimmbassin selbst ist so gross als es irgend angeht, angelegt. Dabei wird meist die oblonge Form gewählt, da sich eine quadratische oder runde Form als unzweckmässig erwiesen hat. Die Grösse schwankt zwischen 11 m Länge : 6,2 m Breite (Hannover, Frauenbassin) und 41 m Länge : 13 m Breite (Wien, Sophienbad). Der Boden des Bassins verläuft in der Regel in einer gleichmässig geneigten Ebene, derart, dass auf der einen Seite das Wasser eine für Nichtschwimmer geeignete Tiefe hat, also zwischen 0,5—1 m, während es nach der durch ein Seil davon getrennten Abtheilung für Schwimmer eine Tiefe bis zu 2—3 m erreicht.

Der Wasserinhalt schwankt den Grössen- und Tiefenverhältnissen entsprechend zwischen 100 und 1121 cbm. Die Wandungen des Bassins werden aus verschiedenem Material hergestellt; es werden Kacheln, Sandstein-, Marmorplatten, Asphalt und bisweilen Eisen verwandt. Cementmauerwerk hat sich dagegen nicht als praktisch erwiesen.

Die Häufigkeit der Reinigung des Bassins ist sehr verschieden, meist 2mal wöchentlich bei starker Frequenz. In einzelnen Anstalten wird noch die umständliche, allnächtliche Bassinfüllung vorgenommen. Nicht alle Schwimmbassins haben constanten Wasserzufluss, der sowohl zur Vermeidung einer öfteren Bassinfüllung wie besonders zur Erneuerung des Badewassers nothwendig erscheint. In vielen Anstalten ist wohl zeitweise Wasserzufluss vorhanden, jedoch die Menge des zufliessenden im Verhältnis zur Gesammtmenge des Bassinwassers eine sehr geringe. In Bremen ist allerdings der constante Wasserzufluss so stark, dass in etwa 15 Stunden die gesammte Wassermenge sich erneuert hat. Eine beständige Bewegung der Oberfläche wird in einigen Schwimmbassins durch Cascaden, durch einen Springbrunnen, ein Schaufelrad oder eine breite horizontale, die Wasserfläche streifende Wellendouche erreicht[1]). Neuerdings wird auch noch eine fortwährende Circulation des Wassers mittels Pulsometers oder Injectors erzielt.

1) G. **Osthoff**, Die Bäder und Badeanstalten der Neuzeit. (Deutsche Bautechnische Taschenbibliothek, 123. Heft, S. 29).

Eine gleichmässige Wassertemperatur zwischen 16 und 20 ° R. wird überall angestrebt. Zu diesem Zwecke wird entweder in einem unter dem Boden des Bassins liegenden Röhrensystem heisses Wasser oder heisser Dampf zugeführt oder man lässt Wasser oder Dampf direct in das Bassin vom Boden aus einströmen.

Indem ich hier von der Raumvertheilung und Ausstattung im allgemeinen, den Ankleidecabinen, den Frauenschwimmbädern, den Heissluft-, Dampf- und Medicinalbädern absehe, will ich noch hervorheben, dass in der Mehrzahl der Anstalten jetzt Seif- und Doucheräume vorgesehen sind, deren Benutzung jedem Besucher vor Betreten des Schwimmbassins anempfohlen wird.

Die Wannenbäder sind in eine erste comfortablere und eine zweite Klasse eingetheilt. Entweder sind gesonderte Hähne für warmes und kaltes Wasser vorhanden oder es erfolgt eine Mischung beider Sorten durch Vereinigung der Zuflussrohre vor dem Eintritt in die Wannen. In älteren Anstalten strömt das Wasser von oben in die Wannen, jetzt steigt es meist von dem Boden derselben auf. In einigen Anstalten wird an Stelle des warmen Wassers heisser Wasserdampf dem kalten Wasser zugemischt. Der Wasserinhalt der Wannen beträgt zwischen 0,25 und 0,5 cbm.

Eine Dampfmaschine von mehr oder weniger Pferdekräften ist in der Regel zum Betrieb der Pumpen zur Hebung des Grundwassers, der Ventilatoren vorhanden. Mehrere Dampfkessel bewerkstelligen die Heizung. Ein oder mehrere Reservoire existiren für warmes und kaltes Wasser. Die Erwärmung im Warmwasserbehälter geschieht durch Einführung von Dampf aus den Dampfkesseln mittels verzweigtem oder schlangenförmigem Rohrsystem. Die Erhitzung des für die Badewannen bestimmten Wassers ist dabei gewöhnlich eine beträchtliche [in der Bade- und Waschanstalt zu Basel wird es möglichst auf 65 ° C. gehalten[1])], während die Vorwärmung des für die Schwimmbassins bestimmten Wassers nur wenige Grade die Temperatur des Bassinwassers überschreitet. [Im Joachimsthal'schen Gymnasium bei Berlin fand ich im Warmwasserreservoir am 15. Juni 1893: 21 ° R., beim Einströmen in das Schwimmbassin 20° R. und im Bassin selbst noch 19° R.]

1) Meyer und Robertson, s. o. S. 13.

Die Benützung der öffentlichen Badeanstalten hat mit dem Wachsthum des Badebedürfnisses in allen Theilen des Landes in den letzten Jahrzehnten eine gewaltige Ausdehnung genommen, so dass täglich eine grosse Anzahl von Personen in den Schwimmbassins und den Wannen der öffentlichen Anstalten baden.

Dass dabei das gemeinsam benützte Wasser eine Verunreinigung erfahren muss, ist von vornherein anzunehmen. In hygienischer Beziehung ist es nun von nicht unerheblicher Bedeutung, den Grad und die Art dieser Verunreinigung zu prüfen; und dies in bacteriologischer Hinsicht zu thun, also die durch das Baden bedingten Veränderungen des Wassers in bacteriologischer Beziehung zu prüfen, das war die Aufgabe, zu deren Lösung ich durch Untersuchungen von Wasser aus einigen Badeanstalten in Berlin etwas beizutragen suchte.

Skutsch[1]) berichtet über eine im Jahre 1880 in Posen beobachtete Endemie von Vulvovaginitis; über 236 schulpflichtige Mädchen im Alter von 6—14 Jahren erkrankten nach dem Gebrauch von Soolbädern, die ihnen in einer Anstalt der Stadt unentgeltlich verabreicht waren, an einer entzündlichen Affection der Schamtheile. Im Secret waren deutlich Gonococcen nachweisbar. Die Uebertragung ist vermuthlich von einzelnen vor der Anwendung der Bäder bereits erkrankten Mädchen durch gegenseitige Berührung der Schamtheile, durch ungenügende Reinigung der benützten Wannen, durch gleichzeitiges Baden und durch die Benützung eines gemeinsamen Handtuches entstanden.

Da die bacteriologischen Verhältnisse der Bäder bis jetzt nicht näher geprüft worden sind, so hat es hygienisches Interesse, Erhebungen über die Beschaffenheit des Badewassers anzustellen. In erster Linie müssten sich dieselben auf die allgemeinen Schwimmbassins und gemeinsamen Badeanstalten concentriren, weil hier eine unrichtige Handhabung und Mängel der Einrichtung eine öffentliche Calamität bedeuten.

---

1) R. Skutsch, Ueber Vulvovaginitis gonorrhoica bei kleinen Mädchen. (Inaug.-Diss. Jena 1891). Centralblatt für Bacteriologie 1892, Bd. XII, S. 309.

In logischer Folge wird man sich aber auch fragen müssen, wie denn die Verhältnisse bei den Wannenbädern Einzelner sich gestalten; die Kenntnis derselben kann man zur Beurtheilung der gemeinsamen Bäder nicht entbehren[1]).

Es ist einleuchtend, dass bei den Badeanstalten die Qualität des verwendeten Wassers eine wichtige Rolle spielen muss; man hat darauf kaum bisher geachtet. Einen Brunnen, der längst nicht mehr zu Trinkzwecken benützt wird, hält man noch recht gut für brauchbar, um Badewasser zu liefern. Man sollte sich gewöhnen, auch in diesen Fragen weit rigoroser vorzugehen. Je schärfer unsere Begriffe von Reinlichkeit werden, um so besser ist es in hygienischer Hinsicht bestellt.

Das Wasser ist das allgemeine Reinigungsmittel des täglichen Lebens. Jegliches wird immer nur auf den Reinheitsgrad des Wassers gebracht. Ist dieses unrein, so ist es auch der Mensch und seine häusliche Umgebung.

Die Beurtheilung des Reinheitsgrades der Wässer auf Grund der bacteriologischen Untersuchung unterliegt gewissen Bedenken und im Einzelfalle hat man oft grosse unüberwindliche Schwierigkeiten, das bacteriologische Ergebnis zu deuten. Auch ich werde manche Frage einer chemischen Prüfung des Wassers noch überlassen müssen.

Der Bacteriengehalt der Wässer und deren quantitative Verhältnisse ermöglichen aber doch einen recht befriedigenden Einblick in die mit dem Badeprocess Hand in Hand gehende Verschmutzung des Wassers.

Die Wasserproben, welche ich bei meinen Experimenten untersuchte, wurden theils in Erlenmeyer'schen Kölbchen, theils in Reagensgläschen entnommen, die mit Watte verschlossen und in einem Heissluftsterilisator durch Erhitzung bis zur schwachen Braunfärbung der Pfröpfe sterilisirt waren. Von jeder Probe wurden nach kräftigem Umschütteln des Wassers mit sterilisirten Pipetten je zwei Bruchtheile eines Cubikcentimeters in Gelatine-

1) Leider besteht an manchen Orten die üble Sitte, ein Wannenbad mehrfach zu benützen; nach den Eltern werden nicht selten die »Kinder« in dem bereits beschmutzten Wasser »gereinigt«.

röhrchen gebracht, gut gemischt und alsdann Platten gegossen. Die in feuchte Kammern gestellten Platten wurden bei einer Durchschnittstemperatur von 16° R. aufbewahrt. Die Zählungen fanden vom zweiten bis vierten Tage nach dem Giessen statt.

I. Das Schwimmbassinwasser des Bades A (Schwimmbäder)

ist Brunnenwasser, welches von einem Reservoir aus die Anstalt versorgt. Jeden Tag wird nach vollständiger Entleerung des Bassins frisches Wasser eingelassen. Die Temperatur des Bassinwassers beträgt 17½° R. Zur Regulirung der Temperatur fliesst zeitweise etwas wärmeres Wasser zu. Die Anzahl der Schwimmenden ist bei der aussen herrschenden Kälte gering. (Die Versuche wurden im Winter angestellt.)

Es wuchsen auf den Gelatineplatten zu Colonien aus pro 1 ccm Wasser:

I. Versuch am 6. I. 1893.

Aus einem Winkel des Bassins 9700 Bacterien.

II. Versuch am 18. I. 1893.

Aus einem Winkel des Bassins	50 000	Bacterien
aus der Mitte des Bassins	77 000	»
aus dem die Temperatur regulirenden Wasser	115 000	»

III. Versuch am 25. I. 1893.

Aus einem Winkel des Bassins	75 000	Bacterien
aus der Mitte des Bassins	102 000	»
aus dem die Temperat. regulirenden Wasser	17—20 000	»

Die Versuche ergeben also für das Badewasser einen sehr hohen Keimgehalt; unser Berliner Leitungswasser enthält im Durchschnitt nur zwischen 150—305 Keime in 1 ccm; das Badewasser der genannten Anstalt aber bis zu 115 000 Keime.

Es wäre nun durchaus nicht angebracht, diese Keimzahl etwa ausschliesslich auf die Verunreinigung durch die Badenden zurückzuführen, wenigstens müssen wir zunächst nach anderen Quellen bacterieller Verunreinigung suchen.

Da das Badebassin jeden Tag neu gefüllt wird, so bleibt es doch immerhin trotz des Neuzuströmens des regulirenden Wassers

in gewissem Sinne stagnirend. Da meine Wasserproben spätestens des Nachmittags geschöpft wurden, so war die Stagnationszeit allerdings vielleicht noch keine 12stündige, aber immerhin wird man dieses Moment der Bacterienvermehrung in Betracht ziehen müssen.

Es ist bekannt, dass auch in stagnirendem Wasser die Keimzahl verhältnismässig rasch zunimmt, wie Cramer zuerst nachgewiesen hat.

Leone fand in einem Wasser, welches normal 5 Keime in 1 ccm erthielt, nach 24stündigem Stehen bei 14—18° 100 Keime, nach 2 Tagen 10500, Fromme[1]) in einem Wasser, das 193 Keime hatte, am dritten Tage 57000 bei 16—18°, und bei demselben Wasser, als es bei 34° stehen gelassen wurde, 670000 Keime.

Ich selbst fand in Wasser, welches

50	Keime	enthielt,	nach	24stündigem	Stehen	429	Keime	pro	1 ccm
115	»	»	»	»	»	630	»	»	1 »
315	»	»	»	»	»	1610	»	»	1 »

Wenn also das Bassinwasser 50000—115000 Keime in 1 ccm aufweist, und zwar nach nur 12stündiger Stagnation, so ist dies eine so auffallend hohe Zahl, dass man eher geneigt sein wird, eine Verschmutzung des Badewassers als Ursache der Bacterienvermehrung anzunehmen.

Offenbar kommen aber in derartigen Bädern noch andere Quellen der Verunreinigung in Betracht. Eine solche bildet, wie wir zeigen können, das die Temperatur regulirende Wasser. Dieses Wasser, welches bis zu einem gewissen Grade auch bestimmt sein sollte, reinigend auf die Bassins zu wirken, hat gerade das Gegentheil davon erzeugt. Es floss mit 17000 bis 115000 Keimen in das Bassin ein; wie es zu diesem enormen Keimgehalt kam, liess sich nicht aufklären. Das Bassin selbst scheint einmal sogar weniger Keime wie das einströmende Wasser enthalten zu haben. Dass das Bassin selbst auf diesen grossen Keimgehalt nicht kam, erklärt sich wohl dadurch,

1. dass es ursprünglich weit weniger Keime besass als das Temperatur regulirende Wasser,

1) Inaugural-Dissertation Marburg. 1891.

2. dass das Temperatur regulirende Wasser nur einen kleinen Bruchtheil des Bassinwassers darstellt.

Leider liess sich nicht direct beobachten, mit welchem Keimgehalt das Wasser des Morgens in das Bassin gelassen wurde.

Da aber das Wasser der Badeanstalt aus bestimmten Brunnen geschöpft wird, so liess sich annehmen, dass das kalte Wasser wie es für Wannenbäder benutzt wird, dem Brunnenwasser und dem Wasser, welches das Bassin speiste, entspricht.

Ich habe das aus dem Warmwasserhahn und Kaltwasserhahn in der Badeanstalt ausfliessende Wasser geprüft mit einem recht auffälligen Ergebnis:

I. Versuch am 24 I. 1898.

Das heisse Wasser (42° R.) hatte 800 Keime pro Cubikcentimeter
Das kalte Wasser hatte 48 000 Keime pro Cubikcentimeter.

II. Versuch am 7. II. 1898.

Das heisse Wasser (42° R.) hatte 180 Keime pro Cubikcentimeter
Das kalte Wasser hatte 27 200 Keime pro Cubikcentimeter

Daraus folgt, dass also das ursprüngliche Wasser eine für einen Brunnen auffallend grosse Bacterienzahl besass. Möglicherweise stagnirt es in einem Reservoir, jedenfalls gelangt es schon bacterienreich in das Bassin. Das vorgewärmte Wasser stimmt annähernd mit diesem Kaltwasser der Wannenbäder überein.

Bei diesem Bacterienreichthum des sog. reinen Wassers kam jedenfalls die Verunreinigung, welche von den Badenden dem Wasser zugeführt ward, fast nicht mehr in Betracht.

Wo der wundeste Punkt der Einrichtungen dieser Badeanstalt liegt, können wir mit absoluter Sicherheit nicht sagen.

Dass sich der Betrieb eines solchen Schwimmbades aber auch in einer anderen Weise regeln lässt, und dass durchaus nicht alle Wässer einen so hohen Bacteriengehalt aufweisen müssen, das zeigt am deutlichsten die Beobachtung eines anderen öffentlichen Schwimmbades.

II. Das Schwimmbassin der Badeanstalt B

fasst 400 cbm Wasser. Jeden 2. Tag wird nach völliger Entleerung und Reinigung des Bassins frisches Wasser eingelassen. Die Temperatur desselben beträgt 16 ½ ° R. Zeitweise strömt etwas wärmeres Wasser zur Regulirung der Temperatur hinzu. Vor

dem Betreten des Bassins ist jeder Besucher gebeten, den Douche- und Seifraum zu benutzen. Die Zahl der Badenden ist ebenfalls gering.

Am 2. Februar entnahm ich Wasser aus der Leitung des Doucheraums.

Das kalte 4° R. enthielt 2550 Keime in 1 ccm,
das warme 26° R. enthielt 6500 Keime »

Da das Wasser dieser Anstalt dem städtischen Rohrnetz entstammt, so ist die gefundene Zahl in der Anstaltsleitung ziemlich hoch. Doch war die Badeanstalt erst kurz in Betrieb genommen, es bleibt daher die Annahme zu Recht, dass in diesem Falle Verunreinigungen des Rohrnetzes vorgelegen haben müssen.

Das Schwimmbassin war weit reicher an Keimen. Am 2. Februar Mittags 1 Uhr fand ich, nachdem das Wasser vor ca. 40 Stunden eingelassen war, 53500 Keime in 1 ccm bei 16,5° R., eine erhebliche Zahl. Das Wasser war trübe; besonders in dem Raume für Nichtschwimmer, den ich übrigens nicht in Untersuchung zog, schwammen allerlei Unreinlichkeiten auf der Oberfläche. Diese Umstände sprechen also recht für eine durch die Badenden herbeigeführte Vermehrung der Bacterien und nicht für eine durch Stagnation bedingte.

Am 8. Februar war das Wasser des Doucheraumes schon erheblich gebessert.

Das kalte hatte nur 350,
das warme » » 250 Keime pro 1 ccm.

Das Bassinwasser am selben Tage hatte, nachdem es vor 15 Stunden eingelassen war, 22000 Keime pro 1 ccm, eine Zahl, welche auch wohl wieder im Wesentlichen durch die Verunreinigung der Badenden erreicht worden sein dürfte.

Der Betrieb dieses Bades zeichnet sich also wesentlich dadurch von den erst beschriebenen aus, dass das unbenützte Wasser von besserer Beschaffenheit war als dort. Es lässt sich also recht wohl ein sehr hoher Keimgehalt in der Leitung vermeiden; eine erhebliche Verbesserung des Wassers wird aber auch hier durch das in das Bassin ständig einfliessende frische, vorgewärmte Wasser nicht erreicht werden. —

In einigen Anstalten, welche nur Wannenbäder abgeben, fand ich in den benützten Wässern:

Bad C. am 22. II. 1893,	kaltes Wasser	6° R.	5200	Keime	pro 1 ccm
	warmes »	36° R.	1200	»	»
Bad K. am 24. II. 1893,	kaltes »	10° R.	680	»	»
	warmes »	40° R.	550	»	»
Bad O. am 26. II. 1893,	kaltes »		200	»	»

Auch diese Zahlen bestätigen, dass einerseits Wasser von grossem Keimgehalt bei den Bädern benützt werden (Bad C), aber der Betrieb mit besseren Wasserqualitäten sicherlich durchzuführen ist.

Um unter bekannten Voraussetzungen und bei einfacheren Verhältnissen die Versuche auszuführen, erwirkte Herr Prof. Dr. Rubner bei dem Herrn Director des Joachimsthal'schen Gymnasiums, Dr. Bardt, die Erlaubnis, Untersuchungen von Wasser aus dem Schwimmbassin des Gymnasiums vornehmen lassen zu dürfen.

III. Das Bassin des Joachimsthal'schen Gymnasiums

fasst 180 cbm Wasser. Die Wandungen und der Boden sind mit Fliesen ausgelegt. Das Wasser wird aus einem gebohrten Brunnen heraufgepumpt und passirt einen Vorwärmer, einen durch ein Schlangenrohrsystem mit Dampf geheizten Raum. Nach Ablassen des Wassers wird jede Woche einmal eine Reinigung des Bassins vorgenommen, und zwar wird es mit Besen abgefegt und mit Wasser nachgespült. In den Schulferien wird es einmal mit Hilfe von Salzsäure gründlich gereinigt. Im Winter wird an 2 Tagen der Woche, Montags und Donnerstags gebadet und zwar von 10—3 Uhr und von 3—6, wo die meisten Personen, nämlich die Alumnen, baden. Das Bassin wird vor dem ersten Badetag Mittwoch nachmittag und Donnerstag früh gefüllt: vor dem zweiten Badetag wird ein Theil des Wassers abgelassen und durch frisches Wasser von höherer Temperatur ersetzt. Das Brunnenwasser auf folgender Tabelle entstammt demselben Brunnen, aus welchem das Wasser für das Schwimmbassin bezogen wird.

Versuche mit Wasser aus dem Joachimsthal'schen Gymnasium.

Anzahl der Bakterien, welche auf den Gelatineplatten zu Colonien ausgewachsen sind, pro 1 ccm Wasser.

	A. Brunnenwasser (vor dem Eintritt in die Bassinröhren)		B. Schwimmbassinwasser: 1. Einlaufendes Wasser: Brunnenwasser (nach dem Vorwärmen)		B. 2. Wasser aus dem Bassin (Inhalt 180 cbm Wasser): a) Nach gänzlicher Entleerung und Füllung mit frischem Wasser von 20—21° R.: α) Zahl der badend. Person.		a) β) Wasser: αα) Vor dem Baden		a) β) Wasser: ββ) Nach dem Baden		b) Nach Ablassen von 52 cbm und Auffüllen mit frischem Wasser von 26° R.: α) Zahl der badend. Person.	b) β) Wasser: αα) Vor dem Baden		b) β) Wasser: ββ) Nach dem Baden	
Versuch I Zeit der Probenentnahme . . .	9. III. 1893 9 U. V.		9. III. 1893 9 U. V.		9. III. 1893		9. III. 1893 9 U. V.		10. III. 1893 9 U. V.		13. III. 1893	13. III. 1893 9 U. V.		13. III. 1893 5 U. N.	
	Temperatur	Keimzahl	Temperatur	Keimzahl	117		Temperatur	Keimzahl	Temperatur	Keimzahl	70	Temperatur	Keimzahl	Temperatur	Keimzahl
	6,5° R.	60—80	20° R.	60		Aus e. Winkel	18° R.	500	17° R.	23233		16° R.	4640	16° R.	16110
						Aus der Mitte	18° R.	1780	16° R.	41418		17° R.	5320	17° R.	14450
Versuch II Zeit der Probenentnahme . . .	16. III. 1893 10 U. V.		16. III. 1893 10 U. V.		16. III. 1893 121		16. III. 1893 10 U. V.		16. III. 1893 6 U. N.		20. III. 1893 97	20. III. 1893 10 U. V.		20. III. 1893 6 U. N.	
	7° R.	20—80	21° R	40		Aus e. Winkel	18° R.	60	18° R.	6800		17° R.	3430	17° R.	10843
						Aus der Mitte	19° R.	50-120	18° R.	14040		17° R.	4235	16½° R.	7798
Versuch III Zeit der Probenentnahme . . .	23. III. 1893 1 U. N.				23. III. 1893 98		23. III. 1893 1 U. N. nach dem Baden von 10 Personen				27. III. 1893 100	27. III. 1893 10 U. V.		27. III. 1893 6 U. N.	
	8° R.	90				Aus e. Winkel	18° R.	274	19° R.	5255		19° R.	2456	18° R.	44260
						Aus der Mitte	18° R.	213	19° R.	2445		18½° R.	2890	17½° R.	5587

Zur besseren Uebersicht über den ganzen Badeprocess habe ich die Einzelbeobachtungen zu einem Mittelwerth zusammengelegt; daraus folgt:

Brunnenwasser		Bassinwasser			
Keime in 1 ccm		vor dem Baden	nach dem Baden	vor dem Baden	nach dem Baden
frisch	vorgewärmt	ganz erneuert		zum Theil erneuert	
60	50	491	15465	3494	16508

Das zum Baden im Joachimthal'schen Gymnasium benützte Brunnenwasser ist tadellos und enthält nur 60 Keime. Der Process der Vorwärmung bedingt durchaus nicht eine Vermehrung der Keime dieselben sind (innerhalb der Versuchsfehler) an Zahl gleich geblieben. Bei dem Einlaufen in das Badebassin erleidet das Wasser offenbar eine gewisse Verunreinigung durch Bacterien, was aus dem Ansteigen der Keimzahl auf 491 Keime pro 1 ccm hervorgeht. Dieser Werth würde noch etwas kleiner werden, wenn die Zahl 1780 aus der Abtheilung des Mittelwerthes beseitigt würde, was bei den sonst gleichmässigen Befunden berechtigt erscheinen kann; die Mittelzahl ist aber ja im ganzen nicht gross. Das Wasser des Bassins stagnirte einige Zeit nach dem Einfüllen, denn schon Mittwoch nachmittag war ein Theil desselben in das Bassin gelassen worden; trotzdem keine erhebliche Zunahme durch die Stagnation. Daraus mag man auch ersehen, dass bei den Beobachtungen an den andern Bädern die grosse Zahl von Keimen nicht auf die Zunahme durch Stagnation des Wassers bei normalem Betriebe gesetzt werden kann, sondern dass entweder eine ungewöhnlich lange Stagnation vorlag, also ungenügende Reinlichkeit oder hochgradige Verschmutzung von Seiten der Badenden.

Nach dem Baden der Schüler zeigt sich eine Zunahme der Keime mit aller Bestimmtheit, in dem Mittel waren nach dem Baden 15465 Keime vorhanden. Dieses Wasser stagnirt nun etwa 4 Tage, wird zu einem Dritttheil abgelassen und das fehlende $^1/_3$ durch frisches Wasser ergänzt; es hat dann einen mittleren Keimgehalt von 3494.

Berechnet man hieraus, wie viele Keime das Wasser besessen haben muss, ehe es mit $^1/_3$ Wasser mit dem Keimgehalt 50 verdünnt wurde, so kommt man auf die Zahl **5716**.

Nach dem Baden hatte das Wasser 15465 Keime, die Zahl ist demnach auf 5716 dadurch abgesunken, dass ein Theil der Keime sich zu Boden legte, und beim Ablassen des Wassers werden offenbar diese keimreicheren Schichten zum Theil mit fortgespült.

Bei der zweiten Benutzung des Wassers zum Baden hat die Keimzahl auf 16508 also nicht erheblich mehr zugenommen wie bei der ersten Benützung.

Durch diese Beobachtungen erhalten wir also ein Bild von der durch eine Anzahl Badender bedingten Verunreinigung des Wassers. Die Zahl der Badenden, ihre Körperbeschaffenheit, war sicherlich eine wechselnde.

Auf 1 Badenden trafen:

	bei A	bei B
in Reihe I	1,54 cbm Wasser	2,57 cbm Wasser
» » II	1,45 » »	1,85 » »
» » III	1,85 » »	1,80 » »
Mittel	1,61 cbm Wasser	2,07 cbm Wasser.

Die Inanspruchnahme des Badewassers war in der zweiten Badeperiode eine geringere als in der ersten, woraus sich auch der verhältnismässig geringere Keimzahlzuwachs ableiten dürfte.

Die durch die einzelne Person gesetzte Verunreinigung des Wassers würde folgendes berechnen lassen, wobei wir abgerundete Werthe zu Grunde legen wollen. Wassermenge 180 cbm.

Keimzahl vor dem Baden bei

A. 500, nach dem Baden 15,500 in 1 cbcm = Millionen pro 1 l, = Milliarden pro 1 cbm.

B. 3,500, nach dem Baden 16,500 in 1 cbcm = Millionen pro 1 l, = Milliarden pro 1 cbm.

Versuch A.

Nach dem Bade Summa 2790 Milliarden
vorher . . . . 90 »

Zuwachs 2700 Milliarden für 112 Badende
= 27,9 Milliarden pro Person.

Versuch B.

Nach dem Bade Summa 2970 Milliarden
vorher . . . . 630 »

Zuwachs 2340 Milliarden für 89 Badende
= 26,3 Milliarden pro Person.

Beide Fälle stimmen befriedigend mit einander überein.

Diese grosse Keimzahl darf aber an einem derartigen Versuch im Grossen doch wieder nicht allein auf die Bacterien, die an dem Körper haften, zurückgeführt werden; es fällt allerlei Staub in das Bassin, die Badekleidung enthält Bacterien, an den Füssen wird der Bodenstaub mitgetragen, der beim Auskleiden oder sonstwie sich entwickelt, und eines Umstandes müssen wir noch gedenken, nämlich des rein mechanischen Momentes der Bewegung des Wassers.

Ueberall findet sich in stagnirendem Wasser eine Sedimentirung; die Wände des Bassins sind zumeist wohl auch reicher mit Bacterien besetzt, als diese sich im freien Wasser vertheilen. Man wird also zugeben, dass auch mehr Keime in dem Wasser sich finden müssen, wenn es durch die Schwimmenden bewegt wird.

In zwei Versuchsreihen bemühte ich mich, während der Sommermonate den Einfluss der Wassermischung noch besonders festzustellen.

Nachdem an dem einen Tage 216 Personen gebadet hatten, das Wasser während der Nacht stagnirte, nahm ich eine Wasserprobe, liess alsdann mit Stangen gründlich das Wasser mischen und entnahm die zweite Probe. Ebenso verfuhr ich bei einem Controlversuche am nächsten Tage.

Im ersten Fall stieg der Keimgehalt von 103000 auf 432000 Keime,
im zweiten » » » » » 238000 » 260000 »

Eine Einwirkung ist also gewiss ersichtlich, aber sie ist nicht so gross als man vielleicht von vornhererein annimmt; die grössere Steigung im ersten Versuch scheint nur darauf zurückzuführen zu sein, dass in dem sehr keimreichen Wasser allerlei suspendirtes Material schwimmt, das sich gelegentlich ungleich vertheilt. In Gemässheit der grösseren Zahl der Badenden war das Wasser im Sommer erheblich unreiner als im Winter.

Wannenbäder.

Nachdem wir kennen gelernt haben, in welchem Grade das Wasser durch die Badenden in Schwimmbassins verunreinigt wird, hat es Interesse, die bezüglichen Verhältnisse bei Wannenbädern hier anzufügen.

Ich nahm Vollbäder von 28° R., und zwar je ¼ Stunde lang unter Abreibung des ganzen Körpers ohne den Gebrauch von Seife, um den etwaigen Einfluss derselben auf Zahl und Vertheilung der Keime zunächst auszuschliessen [1]).

1. In dem vor dem Bade entnommenen Wasser betrug die Keimzahl pro 1 ccm:

am 13. Januar	2500
in dem nach dem Bade entnommenen Wasser	9700
2. am 16. Januar:	
im Wasser vor dem Bade	635
» » nach » »	3500
3. am 7. Februar:	
vor dem Bade	20500
nach » »	37400
4. am 4. März:	
vor dem Bade	400
nach » »	4800.

Berechne ich die Gesammtquantität der vom Körper abgegebenen Keime, so findet sich

in Versuch I	2770	Millionen Keime
» » II	1450	» »
» » III	6530	» »
» » IV	830	» »
Im Mittel	3860	Millionen Keime.

1) Einige über den Einfluss der Seife angestellte Versuche haben bisher zu keinem endgiltigen Resultat geführt.

1. Im Wasser eines Fussbades, welches 15 Minuten lang mit Seife genommen wurde, haben sich am 19. I. ebensoviel Bacterien nach dem Bade gezeigt, wie in dem Controlbad ohne Seife.

Vor dem Bade 30 Keime pro Cubikcentimeter
Nach » » 35 000 » » »

2. Es wurden 200 ccm Wasserleitungswasser + 50 ccm einer ¼%igen sterilen Seifenlösung verglichen mit 200 ccm desselben Wassers + 50 ccm sterilen Wassers. Die Mischungen wurden 24 Stunden bei 16° R. stehen gelassen und Platten mit Wasser aus den oberflächlichen und tiefen Schichten gegossen. Es ergab sich am 25. III. in der Mischung

ohne Seife oben	1260 Keime pro ccm	mit Seife oben	1470 Keime pro ccm
unten	1530 » » »	unten	2420 » » »

Diese Zahl gilt nur für den speciellen Fall, dass die Haut des Menschen auch abgesehen von den Bädern einer täglichen Reinigung unterworfen wird.

Verschmutzung des Wassers durch die Wanne war ausgeschlossen, da dieselbe vor der Benützung gründlich gesäubert wurde.

Die Keimzahl des Badewassers war absolut betrachtet nach dem Baden keine sehr hohe 3500—37400 betragend; die auf die Person treffenden absoluten Werthe sind aus Gründen, welche früher auseinandergesetzt wurden, kleiner als beim Schwimmbad.

Bei einem Fussbad, bei welchem mittels eines Liters Wassers bei 28° R. der eine Fuss gewaschen und abgerieben wurde, fand ich Keimzahl pro 1 ccm

	vorher	nachher
19. Januar	30	35000
10. Februar	100	325000
Mittel	65	180000,

also waren im Liter rund 180 Millionen Keime vorhanden, welche auf Fuss und waschende Hand zu setzen sind.

Bei der qualitativen Prüfung der Wasserplatten zeigten sich durchaus nicht immer eine einheitliche Flora, sondern eine grosse Anzahl sehr verschiedener Arten von Bacterien, sowohl verflüssigenden wie nicht verflüssigenden, mit verschiedener Pigmentbildung. Während gewöhnlich die Bacillen überwiegend waren, traten 3 Mal auf den mit Badewasser gegossenen Platten auffallend viel Coccen auf. Penicillium wie Mucorarten, Sarcinen und Rosa-Hefe fand sich wiederholt, desgleichen Bacterium coli commune, welches die typischen Colonien zeigte und morphologisch durch die Geisselfärbung vom Typhusbacillus sich differenzierte.

Auf den mit Schwimmbassinwasser beschickten Agarschälchen gelangten eine grössere Anzahl von Colonien bei Brüttemperatur zur Entwickelung. Die entwickelten Colonien wurden durch Impfungen häufig auf ihre etwa vorhandene Pathogenität geprüft, jedoch mit negativem Resultat.

Um das Verhalten des Wassers in einem Badeschwamm bezüglich seines Bacteriengehaltes zu prüfen, wurden folgende Versuche angestellt:

Ein neu gekaufter Badeschwamm wurde sterilisirt, indem er nach ¾ Stunden langem Auskochen in Wasser an 3 auf einander folgenden Tagen je ½ Stunde lang der Einwirkung des strömenden Wasserdampfes von 100° C. ausgesetzt wurde. Auf den in einem sterilen Wasserglas befindlichen Schwamm wurde sodann Wasserleitungswasser gegossen, sodass er sich vollsog. Eben solches Wasserleitungswasser wurde in ein zweites gleiches Gefäss hineingelassen und eine Probe daraus entnommen. Beide Gefässe wurden 24 Stunden bei 16° R. stehen gelassen. Ich drückte alsdann das in dem Badeschwamm befindliche Wasser zuerst mit desinficirten Händen[1]), später zwischen zwei sterilisirten Glasplatten aus und verglich nun den Keimgehalt dieses ausgedrückten Wassers mit dem des ohne Schwamm stehen gelassenen Wassers.

Es ergab sich:

Versuch I.

Am 6. III.	enthielt das Wasserleitungswasser . .	115	Bacterien pro ccm
» 7. »	» » ohne Schwamm stehen gelassene Wasser	630	» » »
» 7. »	» » mit Schwamm stehen gelassene u. ausgedrückte Wasser	14200	» » »

Versuch II.

Am 13. III.	Wasserleitungswasser	315	Bacterien pro ccm
» 14. »	Ebensolches, ohne Schwamm stehen gelassen	1610	» » »
» 14. »	Ebensolches, mit Schwamm stehen gelassen und ausgedrückt . . . . ca.	5 Mill.	(ungef. Schätzung.)

Versuch III.

Am 21. III.	Wasserleitungswasser	50	Keime pro ccm
» 22. »	Ebensolches, ohne Schwamm stehen gelassen	429	» » »
» 22. »	» mit Schwamm stehen gelassen, erste ausgedrückte Portion .	5540	» » »
	zweite » » .	4680	» » »

Es stellte sich also heraus, dass die Vermehrung der Bacterienzahl in dem im Schwamme stehen gelassenen Wasser eine vergleichsweise wesentlich grössere war als in demselben Wasser,

1) Die Hände waren mit Wasser und Seife und dann in 1‰ Sublimatlösung gewaschen, schliesslich mit sterilem Wasser abgespült.

welches ebensolange ohne Schwamm stehen geblieben war. Danach vermehren sich also die Bacterien im Wasser innerhalb eines Badeschwammes ungleich stärker als sie es indemselben Wasser ohne Badeschwamm thun würden.

Die Ursache ist neben weniger wichtigen Momenten offenbar darin zu sehen, dass sich in den Schwämmen immer Nährmaterial für die Bacterien findet.

Zur näheren Feststellung wurden folgende Versuche ausgeführt:

1. Es wurde Wasserleitungswasser und der in einem Wasserglas befindliche Badeschwamm in discontinuirlicher Weise sterilisirt. Dann wurde sterilisirtes Wasser auf den Schwamm gegossen, 5 Minuten stehen gelassen, dann zwischen 2 sterilisirten Platten in 2 gleichen Portionen in zwei sterilisirte Wassergläser hinein ausgedrückt.

Zur Controle entnommene Proben erwiesen sich auf den Gelatineplatten als steril. In ein drittes sterilisirtes Glas wurde eine gleich grosse Quantität sterilen Wassers, welches mit dem Schwamm nicht in Berührung gekommen war, gegossen. Nun wurde von einem keimreichen Wasser (aus einem Schwimmbassin nach dem Baden entnommen), dessen Keimgehalt durch Plattenzählung festgestellt wurde, in alle 3 Gläser je 1 ccm hineingebracht und das Wasser in den Gläsern umgeschüttelt. Mit den 3 Gemischen wurden zunächst sofort Plattenculturen angelegt, um deren Keimgehalt zu bestimmen, dann wurden alle 3 Gemische 24 Stunden bei 16° R. stehen gelassen, worauf wieder eine Bestimmung des Keimgehalts des Wassers in den 3 Gläsern stattfand[1]).

Es enthielt:

Am 17. III. Gemisch A:

Steriles Wasser + 1 ccm Badewasser . . . 126 Keime pro ccm

1) Das Badewasser enthielt 6200 Keime in einem Cubikcentimeter. Da die 3 Gläser je 56 ccm Wasser enthielten und in ein jedes 1 ccm, also 6200 Keime gethan wurden, so mussten bei gleichmässiger Vertheilung auf 1 ccm der Mischung in jedem Glase 6260 : 56 = 110 Keime kommen. In der That fanden sich (cf. oben) 126 und 100, eine der Rechnung ziemlich entsprechende Bacterienzahl.

Gemisch B:
Erste aus dem Schwamm ausgedrückte Portion
+ 1 ccm Badewasser . . . . 100 Keime pro ccm
Gemisch C:
Zweite aus dem Schwamm ausgedr. Portion
+ 1 ccm Badewasser . . . . 100 » » »
Am 18. III. Gemisch A:
Nach 24stündigem Stehen . . . . 228000 » » »

Die mit Gemisch B nach 24stündigem Stehen beschickte Platte verfällt schneller Verflüssigung, so dass eine Zählung der Colonien unmöglich ist.

Zwei mit Gemisch C nach 24stündigem Stehen angelegte Platten verflüssigen sich noch ausserordentlich viel schneller als die Platte des Gemisches B, so dass auch hier eine Zählung unmöglich ist.

2. Dieser Versuch wurde ebenso angestellt wie der erste, nur dass das sterile Wasser in dem Schwamm 3 mal 24 Stunden stehen gelassen wurde, ehe es ausgedrückt wurde, und dass an Stelle des Badewassers, in welchem sich eine zahlreich auftretende verflüssigende Bacterienart fand, Spreewasser genommen wurde.

II. Versuch am 21. III.

Die Controlplatten aus dem ausgedrückten Wasser steril.

A: Das sterile Wasser + 1/2 ccm Spreewasser zeigte 50 Keime pro ccm
B: Die erste ausgedrückte Portion + 0,2 ccm Spreew. 160 » » »
C: » zweite » » + 0,5 » » 76 » » »
Nach 24stündigem Stehen zeigte Gemisch A: . . . 19300 » » »
» B: . . . 551000 » » »
» C: . . . 223000 » » »

Die oben geäusserte Vermuthnng bestätigte sich also: Es fand sich in dem aus dem Schwamm ausgedrückten sterilen Wasser eine erheblichere Vermehrung der hineingebrachten Bacterien nach 24stündigem Stehen als in dem mit einer ziemlich gleichen Menge Bacterien versehenen, ohne Schwamm stehen gelassenen sterilen Wasser. Es müssen also von dem Schwamm Substanzen in das Wasser hineingelangt sein, welche die Bedingung für eine stärkere Vermehrung der Bacterien geschaffen haben. Das Naheliegendste ist, anzunehmen, dass es geringe Mengen organischer Substanzen sind, welche einem neu gekauften Schwamm trotz des Auskochens immer noch anhaften und durch das Uebergehen in das Wasser diesem einen grösseren Gehalt an Nährmaterial für die Bacterien zuführen. Die Versuche würden

damit eine weitere Stütze für den im allgemeinen geltenden Satz erbringen, dass die Zahl der Bacterien im Wasser mit der Zunahme der organischen Substanzen in demselben ansteigt.

Von praktischem Interesse aber sind sie insofern, als sie die Wichtigkeit des Usus bestätigen, einen zum Baden benützten Schwamm, in den man also Bacterien vom Körper übertragen hat, nach dem Gebrauch sofort auszudrücken, weil sonst die Gelegenheit zu einer ausserordentlichen Vermehrung der Bacterien innerhalb des Schwammes und damit zu einer grossen Verschmutzung desselben gegeben ist. Andererseits empfiehlt sich das Ausdrücken des benützten Schwammes schon deswegen, weil damit die bacterientödtende, also desinficirende Wirkung der Austrocknung in Kraft treten kann.

Zum Schlusse spreche ich Herrn Prof. Dr. Rubner für die Anregung zur Arbeit, sowie für das grosse Interesse und die Bemühungen, welche er derselben gewidmet hat, meinen aufrichtigen Dank aus. Herrn Privatdocenten Dr. Carl Günther bin ich ebenfalls für seine liebenswürdige Unterstützung zu lebhaftem Dank verpflichtet.

Ueber zwei neue in Wasser gefundene Kommabacillenarten.

Von

Stabsarzt Dr. **Bonhoff.**

(Aus dem hygienischen Institute zu Berlin.)

Die bacteriologische Untersuchung eines aus Stolp in Pommern zur Prüfung an das Institut eingesandten Wassers liess neben zahllosen anderen Bacterienarten — in 1 ccm des Wassers fanden sich 80000 Keime — Colonien erkennen, die eine so auffallende Aehnlichkeit mit Choleracolonien hatten, wenigstens bei der Untersuchung nach 24stündigem Wachsthum, dass Jeder, der sie sah, sie für typische Choleracolonien erklärte. Die Grösse, die unregelmässige Begrenzung, der rosa Hof, die Glasbröckchen, die Trichterbildung, Alles liess sich an diesen Colonien, bei später aus Reinculturen gegossenen Platten besonders auf der 1. Verdünnung, so exquisit deutlich erkennen, wie man es selbst bei frisch aus Dejectionen gezüchteten Choleracolonien nur selten zu sehen bekommt. Da die mikroskopische Untersuchung deutlich gekrümmte Stäbchen mit vereinzelten S-Formen zeigte, so wuchs die Wahrscheinlichkeit, Choleracolonien in einem gewöhnlichen Wasser gefunden zu haben. Indess schon die Nitrosoindolreaction versagte in der mit Häutchen versehenen, stärker getrübten Bouillon völlig, im Gelatinestich zeigte sich in immer wiederkehrender Weise bei 18° ein Wachsthum, welches bis zum 10. Tage durchaus dem des Koch'schen Vibrio glich, dann aber plötzlich durch eine rasch um sich greifende, intensive Verflüssigung der Gelatine sich auszeichnete, derart, dass nach 3—4 Tagen der

ganze Nährboden grau getrübt und völlig gelöst war. Vor Allem aber zeigte sich bei wiederholter mikroskopischer Untersuchung im gefärbten Präparat eine auffallende Unbeständigkeit der Kommaform. Im Anfang war es fast in jedem Präparat gelungen, deutlich gekrümmte Formen in grosser Zahl, aber auch wenige S-Formen nachzuweisen. Dann konnte man wochenlang trotz eifrigsten Suchens niemals ein Komma in den Präparaten entdecken, während die Wachsthumserscheinungen auf unseren künstlichen Nährböden durchaus die gleichen geblieben waren. Immer fand man in den gefärbten Präparaten gerade Stäbchen der verschiedensten Grösse, von den kleinsten, deren Längsdurchmesser den queren um nichts übertraf, also ganz coccenähnlichen Gebilden bis zu solchen, die in ihrer Grösse ungefähr mit der ausgebildeten Form des Bacterium coli commune übereinstimmten. In neuester Zeit dagegen ist es bei fast allen Präparaten wieder gelungen, verhältnismässig zahlreich gekrümmte und S-Formen zu sehen. Dass es sich dabei nicht um Analogien zu berühmten Umzüchtungen gehandelt hat, dafür bürgt die Controle, welche stets durch Platten auf Gelatine und Züchtung auf Agar, Bouillon und Gelatine auf die Reinheit der Culturen ausgeübt wurde.

Die Colonien auf den Gelatineplatten waren schon am 3. Tage nicht mehr mit Colonien des Koch'schen Vibrio zu verwechseln. Wenn auch für die Betrachtung der Platte mit blossem Auge noch eine gewisse Aehnlichkeit blieb, insofern dieselbe mit kleinsten runden Vertiefungen wie besät war, so zeigte doch schon ein genaueres Hinsehen auffallende Unterschiede. Die Vertiefungen waren scharf kreisrund, wie mit einem kleinen Locheisen ausgeschlagen, am Boden derselben fand sich nur eine ganz dünne Schicht der Bacterienwucherung, mikroskopisch kaum erkennbar, die Hauptmasse der Cultur war an dem Mantel des kleinen Cylinders angesammelt und man hatte bei der mikroskopischen Betrachtung den Eindruck, als ob von hier aus das weitere Vordringen in die noch intacte Gelatine vor sich ginge, nicht von oben her, wo ein scharfer, von Bacterienmaterial freier Saum des Nährbodens nach der Mitte der kreisrunden Oeffnung hin die

seitliche Wucherung des Cylindermantels überragte. Wenn dieses Bild ausgeprägt war, fand keine wesentliche Veränderung ausser einem geringen Breitenwachsthum mehr statt; letzteres hielt sich in bescheidenen Grenzen.

Auf Kartoffeln bildete sich bei Brüttemperatur nach 24 Stunden ein üppiger, brauner, feuchtglänzender Rasen, ähnlich dem des Rotzbacillus auf dem gleichen Nährboden, nur wesentlich dunkler. Bei den Kartoffelröhrchen, die bei 18° C. gestanden hatten, zeigte sich meist erst nach 72 Stunden, zuweilen noch später, die erste Andeutung eines Wachsthums, das dann langsam in etwa 48 Stunden denselben Grad erreichte, wie ihn die bei 37° C. gehaltenen Röhrchen nach 24 Stunden aufwiesen.

Amphotere Milch wurde durch den Vibrio nach 24 Stunden bei Aufenthalt im Brütschrank nicht zum Gerinnen gebracht, auch bei Zimmertemperatur liess sich eine Veränderung derselben selbst nach längerer Zeit nicht feststellen.

Wie schon erwähnt, zeigte die Bouillon zwar nach 24 stündigem Stehen im Brütschrank Häutchenbildung, doch war die dicke, grauweisse Kahmhaut leicht von dem zarten, silbergrauen, glänzenden Häutchen zu unterscheiden, das gleichalterige Choleraculturen unter denselben Bedingungen bilden. Auch war die Trübung der Bouillon eine schon viel stärker ausgeprägte und nach 48 Stunden hatte sich meist am Boden des Röhrchens ein starker, weissgrauer Bodensatz von Bacterien gebildet. Der Geruch dieser Bouillon war stark fäulnissähnlich, von dem Aroma der Choleraculturen war nichts zu bemerken.

Auch in 1 proc. Peptonlösungen mit gleichem Kochsalzgehalt — ohne Fleischsaft mit destillirtem Wasser hergestellt — war eine Rothfärbung auf Salz- und Schwefelsäurezusatz niemals zu erzielen; die Prüfungen erstreckten sich über Culturen dieser Art, die 1—10 Tage im Brütschrank gestanden hatten und bei denen ein sehr üppiges Wachsthum stattgefunden hatte.

Thierversuche sind mit diesem Mikroorganismus bisher in äusserst geringer Zahl angestellt worden. Einem Meerschweinchen wurden nach Art der Choleraimpfung per os nach Abtödtung der Magensäure durch 5 ccm 5 proc. Sodalösung 5,0 einer 24 stündigen

Bouilloncultur, der etwa die Hälfte einer gleich alten Agarcultur zugesetzt war, in den Magen gebracht und die Darmbewegung durch Tinct. Op. simpl., intraperitoneal injicirt (1,0 auf 200 g Gewicht), gelähmt. Das Thier zeigte niemals die geringsten Krankheitserscheinungen, die Temperatur desselben hielt sich sowohl während der nächsten acht Stunden, als auch in den Tagen nach der Impfung auf normaler Höhe (38,3—38,6° C.). Drei weiteren Meerschweinchen wurden 24stündige Agarculturen, dem ersten eine halbe, den beiden letzten je eine ganze auf einem Agarröhrchen zur Entwickelung gekommene Cultur intraperitoneal eingespritzt. Das erste Thier hat nie Abnormitäten erkennen lassen, das eine der beiden letzten hatte in den nächsten Stunden eine Erhöhung seiner Eigenwärme, nach 6 Stunden um 1,8° C., war aber vollkommen munter und zeigte auch am nächsten Morgen wieder normale Temperatur; eine Gewichtsabnahme war nicht eingetreten. Das andere, in derselben Weise geimpfte Meerschweinchen, über 200 g leichter als das eben erwähnte, zeigte nach 6½ Stunden eine Herabsetzung der Eigenwärme um 0,4° C.; am nächsten Morgen hatte es 20 g Gewichtsverlust, misst um 7 Uhr 28,5° C., um 9 Uhr 27,0° C. und stirbt um 11½ Uhr. Am Tage der Impfung war das Thier vollkommen munter, am nächsten Morgen lag es auf der Seite, fühlte sich schlaff und kalt an, hatte sehr beschleunigte Athmung und zeitweise klonische Krämpfe der hinteren Extremitäten. Die sofort nach dem Tode vorgenommene Section ergab ein Bild, welches die grösste Aehnlichkeit mit dem Befund nach intraperitonealer Impfung der Meerschweinchen mit Koch'schem Vibrio aufwies: Intensive Peritonitis, klarer, gelblicher Erguss in der Bauchhöhle, Leber, Milz und Netz, zum Theil die Dünndärme mit gelben, dicken Membranen überzogen, im musculösen Zwerchfell und der Bauchmusculatur starke Gefässinjection, daneben reichliche kleine Hämorrhagien in diesen Theilen; in der Brusthöhle etwa 4,0 ccm klare, seröse Flüssigkeit, Herzbeutel vom Herzen durch eben solchen Erguss abgehoben, die vasa propria des Herzens stark mit Blut gefüllt. In einer Oese des peritonealen, pleuralen und pericardialen Exsudates wurden durch Cultur auf Agar unzählige Colonien des Komma nachgewiesen.

Eine weitere Untersuchung des Thieres, der Organe desselben wurde aus äusseren Gründen unterlassen.

Diese wenigen Versuche berechtigen gewiss nicht zu irgend einem Urtheil über die Eigenschaften des gekrümmten Stäbchens in Bezug auf Versuchsthiere, es muss weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, Aufschluss zu bringen.

Die auffallende Aehnlichkeit der Colonien des eben beschriebenen Vibrio auf der 24stündigen Gelatineplatte, besonders der 1. Verdünnung, wurde die Veranlassung zu einer genauen Durchmusterung der Platten dieses Wassers und einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung der irgendwie auffälligen Colonien. Dabei wurde eine zweite, wie gleich erwähnt sei, die Gelatine nicht verflüssigende, deutlich ausgesprochene Kommaform gefunden und reingezüchtet, deren genaue Beschreibung den Gegenstand der nachfolgenden Abhandlung bilden soll.

Was zunächst die Form dieses gekrümmten Stäbchens betrifft, so ist an gefärbten Präparaten von 24stündigen Agarculturen ein Unterschied zwischen den Koch'schen Vibrionen und diesem in der Grösse nicht zu erkennen. Eine genaue Vergleichung beider ergibt vielleicht, dass eine geringe Differenz insofern besteht, als die Krümmung des neu gefundenen Stäbchens eine etwas geringere ist, doch ist dieselbe immerhin noch beträchtlich grösser, als sie bei manchen Choleraarten, z. B. Massauah-Cholera, beschrieben und auch von uns gefunden ist. S-Formen sind entschieden spärlicher vorhanden, als bei jungen Choleraculturen, doch trifft man diese häufig genug an; meist sind dabei die das S zusammensetzenden Zellen kleiner als die darum vorhandenen einzeln liegenden und an den distalen Enden lässt sich deutlich das Auslaufen in eine dünnere Spitze erkennen. Neben diesen ausgeprägten und auf der Höhe der Entwickelung befindlichen Formen findet man erstens fast immer noch zu zweien zusammenhängende kleinere Kurzstäbchen, die ebenfalls in der Mitte dick, an den freien Enden ganz spitzzulaufend sich darstellen. Dieselben nehmen die meisten Anilinfarben ebensogut an, als die

ausgeprägten Kommaformen, sie sind wohl als solche S-Formen zu deuten, deren Krümmung nach dem Auge des Beobachters gerichtet, also nicht in der Ebene des Deckglases, sondern in einer dazu senkrechten gelegen ist. Zweitens finden sich fast in jedem gefärbten Präparat, auch aus jungen Culturen, sehr viel längere, ebenfalls deutlich gekrümmte, an einem Ende dicke und von hier nach dem anderen Ende schmäler werdende Formen, häufig auch in S-Form aneinander gelagert. Sie sind bis zur doppelten Länge der zuerst beschriebenen typischen Formen gross, nicht wesentlich dicker als diese, und dadurch, dass sie niemals ihren ganzen Zellenleib färben, sondern stets mehrere unregelmässig gelagerte und gestaltete Farblücken in ihrem Innern erkennen lassen, wohl genügend als ältere Formen charakterisirt. Uebrigens zeigen auch die typischen Formen helle, farblose Stellen in ihrem Innern. Aber einerseits treten dieselben nur dann zu Gesicht, wenn man kräftige Farben, z. B. Carbolfuchsin, kürzere Zeit, bis eben Dämpfe aufsteigen, über dem kleingeschraubten Bunsenbrenner erwärmt, hat einwirken lassen, und andererseits liegen dieselben stets genau in der Mitte, sind kreisrund, ohne helleren Glanz und also woh nichts weiter, als die analogen Gebilde, die man bei Choleravibrionen schon lange kennt und die neuerdings durch Rahmer von neuem an Choleravibrionen entdeckt und im Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde beschrieben sind. Dass man es dabei nicht mit Sporen zu thun hat, beweist ausserdem der Umstand, dass solche Gebilde enthaltende Formen ebenso schnell der Einwirkung verhältnissmässig geringer Wärmegrade erliegen, als diejenigen Vibrionen, in welchen man sie nicht hat sehen können. Längere Schraubenformen mit 4 bis 6 Windungen sind nur aus etwas älteren Bouillonculturen, aus dem zerbröckelten Häutchen derselben, darstellbar gewesen. Im hängenden Tropfen zeigen diese Komma's eine ausserordentlich lebhafte Eigenbewegung, bei der sich jedoch zum Unterschied von der schiessenden Bewegung der Cholerabacterien sehr häufig rotirende, einen Kreis beschreibende Bewegungen einstellen. Die Eigenbewegung wird ausgelöst durch einen am einen Ende des Vibrio sitzenden gewundenen Geisselfaden, der völlig dem des Choleravibrio analog

gebildet und nach dem Löffler'schen Geisselfärbungsverfahren gut darzustellen ist. Merkwürdigerweise hatte man bei Vergleichung solcher Tropfen mit gefärbten Präparaten immer den Eindruck, als ob die ungefärbten Vibrionen nicht unwesentlich grösser seien, während man doch nach Analogie mit anderen Bacterien das Umgekehrte hätte erwarten sollen. Ein Einfluss des Einbettungsmittels ist dabei auszuschliessen. Der von einer Membran umschlossene Inhalt des einzelnen Organismus liess Differenzirungen nicht erkennen, er bestand aus einer gleichmässig gekörnten grauen Protoplasmamasse; Sporenbildung ist niemals beobachtet.

Basische Anilinfarben nahm der Vibrio in sehr verschiedener Weise an. Vor Allem zeigte sich ein durchgreifender Unterschied darin, ob man die Farblösungen erwärmt oder kalt anwandte. Die vorzüglichsten Bilder erhielt man stets, wenn geeignete Farblösungen ¼ Stunde kalt angewandt waren, während stets bei der kürzer oder länger gebrauchten Erwärmung aller Farben sich unklare, wenig deutliche und meist nur in einzelnen Theilen gefärbte Formen zeigten, die sehr weit von einem guten Präparat entfernt waren. Zu den geeigneteren Farben gehörten Gentianaviolett und vor Allem die bläuliche Nüance des Jodvioletts, das Dahlia, mit dem es stets ausgezeichnete Bilder gab, also zwei mit Dextrin gestellte und verunreinigte Farben. Sehr viel schlechter war schon das Fuchsin, auch in seinen Zusammensetzungen mit Phenol und Anilinwasser-Natriumhydrat, wenn auch die Ziehl'sche Lösung halb mit Wasser verdünnt zuweilen ganz erträgliche Bilder gab. Am schlechtesten geeignet war entschieden das Methylenblau und seine Compositionen. Mit diesen Farben ist es niemals gelungen, auch nur eine einigermaassen deutliche Zeichnung zu erhalten. Bismarckbraun färbte schwach, aber distinct; ebenso Methylgrün. Auch mit saueren Anilinfarben z. B. Eosin, liess sich eine gute Färbung der Vibrionen erzielen. Jodlösung färbte stark braun, die Gram'sche Methode liess eine Entfärbung eintreten. Gegen schwächste Säuren waren die Präparate ausserordentlich empfindlich, sehr häufig trat schon bei Verwendung ganz schwach essigsauren Wassers (1 : 10000 ?) eine unliebsame Aufhellung des Farbenbildes ein.

Die künstlichen Nährböden, auf welchen der Vibrio wachsen soll, müssen erstens feucht, nicht zu trocken, und zweitens deutlich alkalisch sein oder wenigstens keine freie Säure aufweisen. Am besten wächst derselbe ganz entschieden bei Brüttemperatur; schon bei Zimmertemperatur (18 bis 20° C.) tritt eine erhebliche Verzögerung des Wachsthums ein, bei 15° C. ist dieselbe noch stärker, und bei Temperaturen unter 10° C. wächst er überhaupt nicht mehr. Die obere Wärmegrenze der Wachsthumsfähigkeit ist nicht bestimmt worden, jedenfalls liegt dieselbe über 40° C.

Agarplatten des Kommabacillus aus Reinculturen, bei 37° C. gehalten, zeigen nach 24 Stunden stecknadelkopf- bis erbsengrosse, an der Oberfläche liegende, graublaue Colonien, deren grösster Theil aus einer, über die Agarfläche sich fortschiebenden zarten Haut besteht. Die meisten dieser Colonien zeigen in der Mitte einen stärker oder schwächer hervortretenden, gelbgrauen Punkt. Unter dem Mikroskop tritt dieser Punkt als kleiner Kreis deutlicher zu Tage, und zwar in jeder Colonie, er hat eine gewisse Aehnlichkeit mit einer kleinen, 20 Stunden alten Colonie des Vibrio Deneke auf Gelatine, ist nur etwas dunkler. An der Haut lässt sich ausser einer helleren, etwa 2 mm breit erscheinenden Zone am Rande nichts Besonderes erkennen. Der Rand ist kreisrund, glatt und setzt sich scharf von der Oberfläche des Nährbodens ab. In den nächsten Tagen wächst die Haut nach allen Seiten gleichmässig fort und erst das Trockenwerden des Agars oder Verunreinigungen aus der Luft behindern schliesslich das Wachstum.

Auf schräg erstarrter Agarfläche entwickelt sich bei Brüttemperatur in äusserst kurzer Zeit, in 4 Stunden, wie in einem Falle beobachtet wurde, ein feucht glänzender, graublauer Rasen ohne irgend welche Besonderheiten. Ueber der Oberfläche des Condenswassers bildet sich in jedem Fall ein zartes, grauweisses, lose zusammenhängendes Häutchen, zu gleicher Zeit hat sich am Boden des Condenswassers eine dicke, graue, fadenziehende Bacterienmasse angesammelt. Der Nährboden selbst wird nicht verfärbt, die Dicke der Schicht des Rasens nach 24 Stunden beträgt ungefähr 1 mm; in den tieferen Teilen, unmittelbar über dem

Condenswasser auch wohl mehr. Von wie bestimmendem Einfluss diese Flüssigkeitsansammlung auf das Wachstum unseres Vibrio sein kann, sah man in einem Falle, in welchem ein Agarröhrchen, das etwa 3 Wochen vor Ingebrauchnahme gestanden hatte und bei dem das Condenswasser völlig verdunstet war, mit dem Komma und zwar frischer Kultur, die auf anderen Röhrchen schön zur Entwickelung kam, geimpft wurde. Trotz 48stündigen Aufenthalts im Brütschrank war nicht die Spur einer Cultur zu sehen. Erst als dasselbe Röhrchen eingeschmolzen, wieder in schräger Lage zum Erstarren gebracht und geimpft war, entwickelte sich in dem jetzt genügend feuchten Röhrchen ein kräftiger Bacterienrasen. Bei niederen Temperaturen ist die Fortpflanzungsgeschwindigkeit eine erheblich langsamere. Bei etwa 20° C. brauchte auf schräg erstarrtem Agar dieselbe Cultur 2 Tage, bei einer ziemlich konstant 15° C. zeigenden Temperatur im Keller 3 Tage zur Anbildung des Bacterienrasens in annähernd derselben Entwickelung, wie sie bei Brüttemperatur nach 24 Stunden sichtbar war. Bei einer etwa 10° C. entsprechenden, zuweilen auch etwas tieferen Temperatur im Eisschrank kam es auf Agar überhaupt nicht zur Entwickelung, während schon ein geringes Steigen über 10° C auf demselben Röhrchen ein langsames Bacterienwachstum zu Tage treten liess. In derselben Weise wie gewöhnlicher Agar verhielten sich auch Glycerinagar (4%) und Traubenzuckeragar (1½ %). Nur war bei dem Glycerinagar stets eine sehr viel üppigere Entwickelung zu beobachten, die Schicht war dicker und zeigte eine deutliche Zeichnung, wie Leisten, die hervorragten, auf der Oberfläche, und ausserdem hatte der Nährboden in allen Fällen eine leichte Grünfärbung angenommen, die jedoch immer äusserst gering war und sich auf anderen, auch Glycerin-Nährböden niemals selbst nur so deutlich gezeigt hat.

In alkalischer Bouillon, die aus Fleischwasser, Pepton 1% und Kochsalz 0,5% hergestellt und bei Brüttemperatur gehalten war, liess sich nach 24 Stunden in allen Fällen ein üppiges Wachsthum erkennen. Die Oberfläche der Nährlösung zeigte ein feines graues Häutchen, weisser und nicht so glänzend und zart wie bei Cholerabacterien. Die Bouillon selbst war nur sehr mässig

getrübt und von einer Ansammlung von Bacterien am Boden des Glases nichts zu erkennen. Erst nach 2 Tagen trat diese ein, zugleich hatte sich die Bouillon selbst sehr viel stärker getrübt, und war auch das Häutchen wesentlich dicker geworden, und eine kleine Strecke weit an den Wandungen des Reagenzglases anhaftend. Bei Temperaturen von 20 und 15° C. war auch hier das Wachsthum um 1 bezw. 2 Tage verzögert, bei 10° C. und darunter erfolgte eine Vermehrung des Impfmaterials überhaupt nicht mehr. Zusätze von Glycerin und Traubenzucker zu der Bouillon liessen eine geringe, kaum wesentliche Zunahme der Fortpflanzungsgeschwindigkeit erkennen, die Traubenzuckerbouillon-Röhrchen ausserdem schon nach 24 Stunden eine lebhafte Blasenbildung auf der Oberfläche, die vielleicht auf einer Vergährung des Zuckers und der Bildung von CO_2 beruhen mag; eine chemische Untersuchung dieser Umsetzung ist bisher nicht vorgenommen worden. Alle Bouillonröhrchen zeigten vom 3. Tage ab keine wesentliche Veränderung mehr, bei älteren, 2—4 Wochen nach der Impfung, war der Bacteriensatz am Boden wesentlich vermehrt, die überstehende Bouillon etwas weniger stark getrübt, das Häutchen an der Oberfläche zerrissen, und in einzelnen Bruchstücken auf der Nährlösung schwimmend. Es mag gleich hier erwähnt sein, dass es niemals weder durch Zusatz von Schwefel-, noch von Salzsäure gelang, eine Rothfärbung der Bouillon zu erzielen; dieselbe nahm lediglich nach Schwefelsäurezusatz eine durch die Veränderung des Peptons bedingte bräunliche Färbung an.

Wenn man von einer Reincultur dieser Kommaform Gelatineplatten giesst und dieselben bei 22° C. aufbewahrt, so sieht man am nächsten Tage mit blossem Auge nichts von einer Bacterienentwickelung, unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung (Leitz 3, Ocular 1) kleinste Colonien, kaum stecknadelkopfgross. Nach 48 Stunden erst sieht man auch mit blossem Auge bei scharfem Hinsehen und Vorhalten eines dunklen Gegenstandes vor die Platte kleinste stecknadelspitzgrosse Pünktchen von grauweisser Farbe, die sich unter dem Mikroskop bei derselben Vergrösserung als kreisrunde, silbergraue, mit scharfem Rand versehene Colonien darstellen, in deren Innerem sich einzelne nicht

sehr hell glänzende Bröckchen erkennen lassen. Um die Colonie herum ist keine hellere Zone, keine Verfärbung zu sehen. Am 3. Tage sind die Colonien sehr gut gewachsen, der Durchmesser um die Hälfte grösser als am 2. Tage, mit blossem Auge ausgezeichnet als weissgraue kleinste Punkte zu sehen. Bei schwacher Vergrösserung sieht man jetzt zuweilen einen ganz schmalen, hellen Hof bei scharfer Einstellung des Randes der Colonie. Die Colonien bestehen deutlich aus kleinsten Bröckchen, die aber nicht mehr hellglänzend sind, eine dunklere Färbung, leicht graugelb, ist vorherrschend. Auch jetzt sind die Colonien scharf kreisrund. Am 4. Tag sieht man um den gestern vorhandenen Theil der Colonie einen deutlichen Wall, der nach dem Centrum hin aus hellen, glänzenden Bröckchen besteht, nach der Peripherie völlig glatt ist, ohne irgend welche Differenzirung. Ganz wesentlich verändert ist das Bild der Colonien am 6. Tage. Dieselben sind erheblich vergrössert, um das Doppelte gegen den 4. Tag, die an der Oberfläche liegenden lassen mit blossem Auge eine matte, graugelbe Färbung und feuchten Glanz, sonst keine Besonderheiten sehen, sind etwa halberbsengross und schieben ihre verhältnissmässig dicke Haut über die freie Fläche der nicht verflüssigten Gelatine fort. Unter dem Mikroskop erkennt man eine grosse Fläche zusammengeballter braungelber Kugeln, mit ganz unregelmässigem Rande, die einzelnen Kugeln und Sprossen zeigen eine schwache Granulirung in ihrem Innern. Die eben an die Oberfläche tretenden Colonieen sind wesentlich kleiner, zeigen aber im Uebrigen völlig dasselbe Bild. Im Laufe der nächsten Tage schieben die Colonien diese ihre graugelbe, feuchtglänzende Haut gleichmässig nach allen Seiten über die Gelatine fort und es kann so zu recht beträchtlichen, bis zwanzigpfennigstückgrossen Ausbreitungen auf der Gelatine kommen. Die Haut ist ziemlich dick, wesentlicher dicker z. B. als die des Bacterium coli commune und lässt mit blossem Auge keine Zeichnung, Leisten, Rippen oder dergleichen sehen; sie ist vollkommen glatt und eben.

Bei niedereren Temperaturen als 22° C. geht das Wachstum der Colonien auf der Gelatineplatte ganz bedeutend langsamer vor sich, bei 15° C. z. B. brauchten die Platten 10 Tage, bis die

tiefer gelegenen Colonien an die Oberfläche gelangt waren. Unter 10° C. versagte auch hier das Wachsthum völlig.

Im Gelatinestich ist in den ersten Tagen kaum eine Fortpflanzung zu sehen. Erst vom 3. Tage an beginnt das Oberflächenwachsthum, die Ausbreitung der schon bei den älteren Colonien beschriebenen Haut über die freie Fläche der Gelatine, während in den oberen Theilen des Impfstichs noch eine geringe, in den unteren gar keine Vermehrung mehr stattfindet. Auf schräg erstarrter Gelatine bildet sich ein silbergrau glänzender und durchsichtiger, etwas trockener Belag aus, der in 4 Tagen die Höhe seiner Ausbildung erreicht hat. Grünfärbung wurde nur zweimal im Gelatinestich in der Nähe der Oberfläche ganz schwach beobachtet, auf schräger Gelatine niemals gesehen. Zusätze von Glycerin und Traubenzucker zur Gelatine sind nicht gemacht worden. Die zur Verwendung gelangte Gelatine war die gewöhnliche Fleischwasserpeptonkochsalzgelatine, 10 %ig, schwach alkalisch gemacht durch Zusatz einer gesättigten Sodalösung so lange, bis eben rothes Lackmuspapier schwach gebläut wurde.

Die Kartoffel wurde in der verschiedensten Weise als Nährboden verwendet. Auf schrägen Kartoffelschnitten erfolgte bei 37° C. in 24 Stunden die Bildung runder, gelbbrauner Tropfen, die sich bis zum nächsten Tage noch etwas vergrösserten. Doch blieb im Allgemeinen das Wachsthum auf den Impfstrich beschränkt; mit der Zeit wurde der Bacterienrasen auf diesen Stücken etwas trockener und dunkler. Ein Einfluss der Reaction der Kartoffeln liess sich nicht feststellen, das Wachsthum erfolgte gleich gut bei schwach sauer und bei alkalisch reagirenden. Bei 22° C. zeigte sich erst am 3. Tage Andeutung von Wachsthum in Gestalt eines ganz feinen braunen Ueberzuges, wobei sich auch die ganze Kartoffel dunkler gefärbt hatte. Bei 15° C. trat dies Wachsthum erst am 5. Tage ein. Einfliessen von Bacterienmaterial in die kleine Wasseransammlung am Boden des Röhrchens fand niemals statt. Auf diesen schrägen Kartoffelflächen kamen die S-Formen besonders schön zur Entwickelung.

Als ein weiterer Kartoffelnährboden diente der Auszug aus Kartoffeln, der von Sander zuerst hergestellt und im Archiv

für Hygiene als ausgezeichneter Nährboden für Tuberkelbacillen beschrieben ist. Es wurde nur die neutrale Kartoffelbrühe ohne irgend welchen Zusatz in Gebrauch gezogen, deren quantitative Untersuchung durch Herrn Dr. Salzmann das folgende Resultat ergeben hatte:

Rückstand bei 100° C. getrocknet	0,327 %,
Asche	0,097 %,
Zucker	Spuren,
Säure auf H_2SO_4 berechnet . .	0,024 %.

Stärke und Eiweiss nicht nachzuweisen.

Diese neutrale Kartoffelbrühe war ein ausgezeichneter Nährboden auch für unsere Kommaform. Bei 37° C. nach 24 Stunden, bei 22° C am 2. Tage hatte sich ein schönes Häutchen auf der Oberfläche gebildet, die Flüssigkeit selbst war stark getrübt und am Boden des Glases fand sich eine nicht unbeträchtliche Menge von Bacterien. Die weiteren Veränderungen waren genau die bei der Bouillon beschriebenen.

Aus dieser Kartoffelbrühe lassen sich nach Sander auch Agar und Gelatinenährböden herstellen in derselben Weise, wie man diese festen Substrate aus Pepton-Fleischwasser gewinnt. Auf solchem Kartoffelbrühe-Agar entwickelt sich nach 24 Stunden im Brütschrank ein perlgrauer, trockener, nicht die Spur von feuchtem Glanz zeigender Bacterienrasen, über dem Condenswasser das schon beim Agar beschriebene Häutchen. Im Gelatinestich und auf dem Strich liessen sich Differenzen gegen gewöhnliche Gelatine nicht erkennen. Bedingung für ein Wachsthum auf diesen Nährböden ist eine sorgfältige Neutralisation der zuweilen im Agar, immer in der Gelatine vorhandenen Säure. Einige Kartoffelagarröhrchen, bei denen dies vergessen war, liessen es nicht zur Vermehrung der Bacterien kommen, obgleich, wie sich später herausstellte, kaum eine Spur freier Säure vorhanden sein konnte. Nach Zusatz eines Tropfens gesättigter Sodalösung und abermaliger Impfung war das Wachsthum ein ausgezeichnetes.

Auf schräg erstarrtem Rinderblutserum bildet sich nach 24stündigem Aufenthalt bei 37° C. ein ganz feines, durchsichtiges, silberweisses, glashelles Häutchen, das sich später nicht mehr

verändert. In demselben lassen sich die schönsten Kommaformen erkennen. Auch hier tritt über dem Condenswasser ein feines Häutchen auf. Flüssiges Rinder-Blutserum liess für das blosse Auge bei 37° C., niemals ein Bacterienwachstum hervortreten, es trat weder Häutchenbildung, noch eine Trübung des Serums ein; am Boden des Röhrchens dagegen, an dem sich das Impfmaterial wohl bald sammelte, entwickelte sich nach mehreren Tagen eine graue Trübung, die aus lebensfähigen Kommaformen bestand. Dieselben Erscheinungen zeigten sich bei flüssigem Menschenserum und dem von Wertheim zuerst beschriebenen Menschenblutserum-Agarnährboden, nur war auf letzterem bei 37° C. das feine silberweisse Häutchen entschieden dicker und kräftiger als auf schräg erstarrtem Rinderblutserum. Bei niedereren Temperaturen als 37° C. trat analog den anderen Nährböden die Verlangsamung der Fortpflanzungsgeschwindigkeit ein, unter 10° C. fand kein Wachsthum statt.

Amphotere Milch, mit dem Kommabacillus geimpft und bei 37° C. gehalten, liess in den ersten vierzehn Tagen irgend eine Veränderung nicht erkennen. Dass eine Vermehrung der Kommaformen eingetreten war, zeigte jedes mikroskopische Präparat und jede auf Agar gebrachte Oese Milch; stets waren vorhanden bezw. entwickelten sich eine Unzahl von Kommaformen. Vom 14. oder auch 15. Tage an zeigte sich dann stets Folgendes: An der Oberfläche der Milch sah man gelbe Fetttröpfchen angesammelt, die darunter befindliche weisse Milch veränderte im Laufe der nächsten Tage ihre Farbe derart, dass zunächst ein mehr gelblicher schmutziger Farbenton auftrat, der allmählich in ein schmutziges Graugelb überging, und schliesslich einer hell bernsteingelben, fast durchsichtigen Farbe Platz machte. Zugleich hatte sich am Boden des Gefässes eine weisse Masse angesammelt, die wohl aus Lactalbuminen und phosphorsauren Salzen bestand. Diese Veränderung ging nur äusserst langsam vor, es dauerte meist bis zur vollen Ausbildung derselben 8—10 Tage vom Beginn, also vom 14. Tage an. Ungeimpfte, am selben Ort aufbewahrte Controlmilch derselben Sorte liess diese Farbenänderung niemals erkennen, so dass also wohl der Einfluss der Verdunstung im Brütschrank

ausgeschlossen und diese Eigenschaft als eine Lebensäusserung der Vibrionen angesehen werden kann. Setzte man zu so veränderter Milch etwas Wasser zu und dann einige Tropfen Essigsäure, so fiel das in der bernsteingelben Flüssigkeit gelöste — nicht aber peptonisirte, wie vielfach fälschlich angegeben — Casein in dicken weissen Flocken aus und setzte sich zu Boden, während die überstehende Flüssigkeit völlig klar wurde. Da sich inzwischen gezeigt hatte, dass der Vibrio ein sehr kräftiger Alkalibildner sei, rieth Herr Professor Rubner, die veränderte Milch auf Ammoniakgehalt zu prüfen. Es wurde also in einen sterilen Exsiccator 15,0 ccm dieser Milch gebracht, mit etwa der gleichen Menge Kalkmilch übergossen und über diese Mischung ein Schälchen mit 10 ccm Normalschwefelsäure gebracht; das Ganze wurde luftdicht verschlossen und im Dunkeln aufbewahrt. Nach 48 Stunden wurden die 10 ccm Normalschwefelsäure mit 1/10 Normalnatronlauge titrirt, dazu verbraucht 101,1 ccm. Es liess sich also in diesem einen Versuch Ammoniak in den 15 ccm der veränderten Milch nicht nachweisen. Dagegen zeigte dieselbe eine starke Blaufärbung rothen Lackmuspapiers, eine schwache Bräunung von Curcumapapier, während blaues Lackmuspapier nicht verändert wurde. Trotz dieses entschiedenen Vorhandenseins von freiem Alkali trat bei Zufügung von Phenolphtaleïn zu der mit destillirtem Wasser verdünnten Flüssigkeit (10 ccm Milch) keine Rothfärbung ein — das Phenolphtaleïn gab allerdings auch in stark verdünnten Ammoniaklösungen keine rothe Farbe. Auf zugefügte Cochenille-Lösung färbte sich die Milch deutlich violett, zur Herbeiführung des Farbenumschlages in 10 ccm Milch wurden dann gebraucht 1,20 ccm 1/10 Normal H_2SO_4. Es ist noch zu erwähnen, dass diese Veränderung der Milch nur eintrat, wenn die Röhrchen bei Brüttemperatur gehalten waren, dass bei niederen Temperaturen auch nach wochenlangem Stehen trotz deutlicher Vermehrung der Spirillen irgend eine dem blossem Auge erkennbare Veränderung nicht beobachtet wurde.

Unser Kommabacillus hat ein lebhaftes Sauerstoffbedürfnis. Schon das geringe Wachsthum in den unteren Theilen des Gelatinestiches liess darauf schliessen, noch deutlicher trat diese

Eigenschaft hervor in Traubenzuckeragarröhrchen in hoher Schicht, die bei Bruttemperatur gehalten nach 24 Stunden, bei niederer Temperatur entsprechend verzögert, dicke Wucherung auf der freien Oberfläche, sehr spärliches Wachsthum im Impfstich bis kaum zu 2 ccm Tiefe erkennen liess. Traubenzuckerbouillon in Kölbchen, aus denen die Luft durch Wasserstoff verdrängt war, liess bei 37° C. nicht die geringste Vermehrung erkennen, auch nach 14 Tagen war keine Spur einer Trübung in der Bouillon eingetreten. Dass dagegen die Bacterien nicht abgestorben waren, zeigte sich nach Oeffnung der Kölbchen; nach dem Luftzutritt im Brütschrank untergebracht, entwickelte sich in demselben das typische Wachsthum des Kommabacillus in schönster Weise, ohne dass eine Neuimpfung eingetreten war. Ein anaerobes Wachsthum trat auch dann nicht ein, wenn man nach dem Vorgang von Scholl die geimpften Kölbchen zunächst 2 Stunden in den Brütschrank stellte, und erst dann die Luft durch Wasserstoff verdrängte. Uebrigens konnte auch bei Cholera asiatica, die aus der vorjährigen Epidemie stammte, ein Wachsthum in derartigen Kölbchen nicht bemerkt werden.

Kochsalzzusatz zur Gelatine in verschiedenem Verhältnis bis zu 2,5 % liess weder Verbesserung noch Verschlechterung des Wachsthums im Vergleich zu gewöhnlicher Gelatine erkennen, dagegen hörte bei 3 % Kochsalzzusatz das Wachsthum völlig auf oder war mindestens so vermindert, dass kaum von einer Bacterienwucherung geredet werden konnte.

In sterilem, destillirtem Wasser kam es niemals zu einer Vermehrung der Vibrionen, während im sterilen Leitungswasser einige Male eine geringe Zunahme der Trübung bei Ueberimpfung von viel Material beobachtet wurde. Doch ist bei der Schwierigkeit, mit der sich solche geringe Differenzen der Trübungen erkennen lassen, ein Irrthum nicht ausgeschlossen. Dagegen liess sich mit Sicherheit feststellen, dass die Kommabacillen in dem destillirten Wasser sehr viel schneller ihre Fortpflanzungsfähigkeit eingebüsst hatten, als im Leitungswasser, einerlei ob die Röhrchen bei Brüt- oder niederen Temperaturen gestanden hatten. 7 Tage nach Impfung der verschiedenen Röhrchen wurde von jedem

derselben 1 Oese Inhalt auf Agar gebracht und diese letzteren Röhrchen in den Brütschrank gestellt. Auf sämmtlichen vom Leitungswasser geimpften Röhrchen war üppigste Bacterienentwickelung, Reincultur des Komma, während von den vom destillirten Wasser abgeimpften Röhrchen auf keinem einzigen eine Cultur zu sehen war. In derselben Weise nach 14 und 24 Tagen vorgenommene Abimpfungen zeigten genau dasselbe Resultat, im Leitungswasser hatten die Vibrionen ihre Fähigkeit, sich fortzupflanzen, bewahrt, im destillirten Wasser war sie schon am 7. Tage nicht mehr vorhanden. Untersucht man hängende Tropfen aus diesen verschiedenen Röhrchen, so zeigte sich deutlich, dass die Spirillen noch am Leben waren, da eine, wenn auch abgeschwächte Eigenbewegung derselben, die mit Strömungen im Tropfen gewiss nichts zu thun hatte, genau verfolgt werden konnte, und zwar gleichmässig in den Tropfen aus destillirtem und aus Leitungswasser. Eine nach 44 Tagen vorgenommene Impfung auf Agar liess nur aus dem Röhrchen Leitungswasser, das im Eisschrank aufbewahrt worden war, einige wenige Colonien zur Entwickelung kommen. Alle anderen Leitungswasserröhrchen, die bei 22° C. und im Brütschrank aufbewahrt waren, blieben in dem neu geimpften Röhrchen steril, obgleich sie genau dieselbe Trübung und denselben Tanz der wolkigen Flöckchen beim Schütteln zeigten, wie das erste Röhrchen.

Setzte man NaCl im Verhältnis von 0,1, 0,5 und 1 % zu destillirtem Wasser zu und sterilisirte, so gediehen bei 37° C. die Spirillen langsam, die Energie des Wachsthums war eine äusserst geringe, am kräftigsten noch bei den 0,5 proc. Röhrchen, die die stärkste Trübung zeigten, allerdings auch erst deutlich nach 4 Tagen. Später fand eine Vermehrung kaum noch statt.

In sterilisirten Lösungen von Milch-, Rohr- und Traubenzucker mit und ohne Sodazusatz sind bisher einheitliche Resultate nicht erzielt worden. Das eine Mal kam es in einfachen Milchzuckerlösungen zu einer lebhaften Vermehrung, während alle übrigen Röhrchen steril blieben; das andere Mal wurde nur in Rohrzuckerlösung mit einigen Tropfen Sodazusatz Wachsthum bemerkt. Die Züchtungsversuche in diesen Nährflüssigkeiten sind

jedenfalls zunächst noch öfters zu wiederholen, ehe man ein Urtheil über dieselben wird abgeben können. Es scheint jedoch, als ob in diesen Lösungen eine Umsetzung des Zuckers nicht stattfände.

Von den Veränderungen, die unser Kommabacillus in künstlichen Nährlösungen hervorbringt, ist die interessanteste und wichtigste das Auftreten einer Rothfärbung in 1proc. Peptonlösungen auf Zusatz von Salz- oder Schwefelsäure. Da die Reaction in ihrem Ablauf sich ebenso verhält, wie jene bei Cholera asiat. und Metschnikoff, so dürfen wir wohl annehmen, dass es sich auch um Nitrosoindol dabei handelt Die Peptonlösungen wurden hergestellt mit destillirtem Wasser, 1 % Witte'schem Pepton und 1 % Kochsalz. Da die Lösungen kräftige Blaufärbung rothen Lackmuspapiers erzeugten, wurde von einem Sodazusatz Abstand genommen. In den Röhrchen war immer schon nach 24 Stunden ein äusserst üppiges Wachsthum, dichte Trübung, Häutchenbildung auf der vorher völlig klaren Flüssigkeit bei Brüttemperatur eingetreten. Setzte man nach etwa 20 Stunden zu dieser Flüssigkeit einige Tropfen concentrirter, chemisch-reiner Schwefelsäure, so trat in allen Fällen eine ganz deutliche Rosafärbung der Flüssigkeit ein, die sichtbar war, auch ohne dass man einen weissen Hintergrund benützte. Es dauerte bis zum ausgeprägten Vorhandensein des Farbenwechsels meistens längere Zeit, bis zu 10 Minuten, also noch länger als bei entsprechenden Cholera- und viel länger als bei gleichen Culturen des Vibrio Metschnikoff. Bei Culturen, die älter waren als 24 Stunden, besonders bei solchen, die mehrere, 3—4 Tage im Brütschrank gestanden hatten, trat die Reaction sofort ein, auch war das Rosa in ein deutliches Roth übergegangen. Kürzere Zeit als 20 Stunden gewachsene Culturen sind nicht geprüft worden. In derselben Weise war die Reaction zu erzielen durch eine entsprechende Menge Salzsäure. Einen irgend erheblichen constanten Einfluss der Säureart, ob HCl oder H_2SO_4 vermochte man nicht festzustellen, bald trat bei Salz-, bald bei Schwefelsäurezusatz stärkere Rothfärbung ein. 24 Stunden nach dem Säurezusatz hatte die Färbung meist noch etwas nachgedunkelt, so dass dann eine sattrothe Farbe der Flüssigkeit deutlich zu erkennen war.

Um ganz sicher zu gehen, dass kein Irrthum irgend welcher Art vorlag, wurde der Versuch des öfteren wiederholt, stets mit dem gleichen Ergebnis. Es wurden gleichzeitig ungeimpfte Peptonlösungen derselben Serie im Brütschrank untergebracht und am selben Tage wie die geimpften mit den beiden Säurearten versetzt; dabei trat niemals eine Farbenänderung ein, nur nach 24 Stunden eine deutliche, gelbbraune, später braune Verfärbung der ganzen Flüssigkeitsschicht, hervorgerufen wahrscheinlich durch Aenderungen, die das Pepton auf den Säurezusatz erlitten hatte. Es wurden endlich zum Vergleich Röhrchen derselben Serie mit Cholera asiatica vom vorigen Herbst (Fall Frohnert Moabit) und Vibrio Metschnikoff geimpft und dabei die Ueberzeugung gewonnen, dass nur eine deutliche Abstufung in der Farbenintensität, derart, dass die Reaction am stärksten beim Metschnikoff, am schwächsten bei unserem Vibrio war, sonst aber genau dieselbe Reaction vorlag. Anhangsweise mag dabei erwähnt sein, dass Choleraculturen zu unserer Verfügung stehen, die die Reaction in noch schwächerem Masse geben, als dies meist bei dem neuen Komma der Fall war.

Zusatz eines Tropfens oder einiger Zweitausendstel eines Tropfens salpetriger Säure liess niemals die Reaction schärfer hervortreten, vielmehr trat dabei stets nach Zusatz von concentrirter Schwefel- oder Salzsäure eine gleichmässig grüne Färbung der ganzen Flüssigkeit ein.

Es war von Interesse zu erfahren, ob ein höherer oder geringerer Gehalt an Pepton auf das Auftreten der Reaction irgendwie von Einfluss war. Die zu diesem Zweck hergestellten verschiedenen Peptonlösungen von 0,5, 1,0, 1,5 und 2,0 %, in denen allen gleichmässig das Wachsthum ein ausgezeichnetes war, zeigten, dass bei 0,5 proc. Lösungen die Rothfärbung am deutlichsten eintrat (zugleich 0,5 % NaCl), während bei 1,0 und 1,5 % Peptongehalt eine gleichmässig schwächere, aber noch deutliche Rothfärbung sich einstellte, bei 2 proc. Lösungen aber, die durch den höheren Peptongehalt etwas gelb gefärbt waren, wohl durch letzteren Umstand eine Beeinträchtigung der Reaction geschaffen wurde. Gleiche Peptonlösungen ohne Kochsalzzusatz

waren, wie vorauszusehen, sehr viel ungünstiger, da die Auflösung des Peptons viel zu wünschen liess und infolgedessen das Wachsthum ein wesentlich spärlicheres war.

In unserer gewöhnlichen Fleischwasserpeptonbouillon war, wie erwähnt, die Reaction niemals zu erzielen gewesen. Lag auch hier nur eine Verdeckung der schwachen Rosafärbung durch die gelbliche Färbung des Nährbodens vor wie bei der 2 proc. Peptonlösung oder war die Zusammensetzung des Nährbodens die Veranlassung dafür, dass die chemischen Umsetzungen in anderer Richtung erfolgten? Das war einfach zu entscheiden. Die Bouillon wurde mit destillirtem Wasser im Verhältnis von 1 : 3 und von 1 : 9 verdünnt; beide Male wurden völlig wasserklare Lösungen erhalten, in denen bei 37° C. nach 24 Stunden schon üppigstes Wachsthum erfolgt war (Trübung, Bildung eines kräftigen Häutchens). Diese Culturen wurden in verschiedenem Alter, vom 1. bis 10. Tage, täglich mit HCl und H_2SO_4 versetzt, ohne dass jemals eine Rothfärbung der Flüssigkeit eingetreten wäre. Dagegen trat hier, wie bei der ungeimpften Peptonlösung, auf Säurezusatz eine gelbliche Bräunung der Culturflüssigkeit ein, so dass vielleicht der Schluss gerechtfertigt ist, dass in diesen Nährlösungen das Pepton gar nicht angegriffen, verändert wird, dass die in diesen enthaltenen Salze oder andere organische Substanzen irgend welcher Art das Material für die Ernährung der Bacterien liefern. Wiederholung des Versuchs lieferte das gleiche Resultat, keine Nitrosoindolreaction.

Das Auftreten der Nitrosoindolreaction in den Peptonculturen unseres Vibrio war die Veranlassung zu einer Prüfung, wie sich die in unserem Laboratorium befindlichen übrigen Spirillenarten, gleichgültig welcher Art, in dieser Beziehung den gleichen Nährlösungen gegenüber verhielten. Die Untersuchung erstreckte sich ausser auf Cholera asiatica (Frohnert) und Vibrio Metschnikoff auch noch auf Spirillum Finkler-Prior, Vibrio Deneke, Vibrio aquatilis Günther, Vibrio Weibel, Spirillum rubrum und Spirillum concentricum. Ausser den beiden ersten Bacterienarten, die die Reaction gleichmässig schon nach 7 Stunden in ausgezeichneter Weise gaben, trat die Reaction sehr deutlich auf

bei Vibrio Deneke vom 5. Tage an, bei Spirillum Finkler-Prior zuerst am 7. Tage; am 6. war nicht geprüft worden. Die beiden unterschieden sich sehr wesentlich darin, dass bei Finkler-Prior sofort eine intensive Rothfärbung eintrat, während bei Vibrio Deneke erst die völlig klar gewordene Flüssigkeit, wenn sich die Bacterien zu Boden gesetzt hatten, kräftiges Roth zeigte. Vorher liess sich ein Umschlag in der Färbung der Flüssigkeit nicht erkennen. Finkler-Prior hatte im Brütschrank, Deneke auf demselben gestanden, da unser Deneke im Brütschrank nicht wesentlich sich vermehrt. Als bei den ersten Röhrchen die Rothfärbung auf H_2SO_4 eingetreten war, wurden sofort von den noch nicht mit Säure versetzten Röhrchen Platten gegossen und an den folgenden Tagen festgestellt, dass überall Reincultur der betreffenden Bacterienart vorhanden war. So hatte man den Beweis, dass in der That diese Spirillen das Auftreten von Indol und salpetriger Säure bewirkt hatten, in Händen, wenn auch die auf Reincultur geprüften Röhrchen noch sich roth färbten. Die Reaction blieb an den folgenden 3 Tagen niemals aus und zeigte sich auch auf Salzsäure.

Von den übrigen geprüften Spirillen waren gut gewachsen nur Spirillum rubrum, mässig Vibrio Weibel, fast gar nicht Spirillum concentricum und der Günther'sche aquatilis. Die Kulturen hatten theilweise bei 37° C., theilweise bei 22° C. gestanden. Niemals wurde Rothfärbung beobachtet beim Aquatilis und Spirillum rubrum, jedenfalls sehr gering und nicht mit Sicherheit festzustellen war sie bei Weibel und Spirillum concentricum. Man kann sagen, dass die letztgenannten vier Bacterienarten in 1—10 Tagen alten Culturen (Peptonlösungen 1 %) eine deutliche Nitroso-Indolreaction nicht erkennen lassen.

Dass unser Vibrio ein kräftiger Alkalibildner ist, wurde schon gelegentlich der Umsetzungen in der Milch erwähnt. In neutralen Kartoffelbrühe-Röhrchen, die mit Phenolphtaleïn keine Rothfärbung zeigten, war nach 3 tägigem Wachsthum im Brütschrank ein Alkaligehalt entsprechend 0,35 ccm, nach achttägigem entsprechend 0,4 ccm 1/10 Normalschwefelsäure, in 10 ccm der Culturlösung mit Phenolphtaleïn nachweisbar. Wesentlich höher war

der Alkaligehalt in einer 8 Tage alten Bouilloncultur (Brütschrank), wo die ursprüngliche Bouillon zwar rothes Lackmuspapier blau, aber auch blaues schwach roth gefärbt hatte und wo in derselben Alkalifärbung weder mit Phenolphtaleïn noch mit Cochenillelösung zu erreichen gewesen war. Die erste Probe ergab mit Phenolphtaleïn titrirt in 10 ccm = 0,85 $^1/_{10}$ Normal-H_2SO_4, die zweite Probe in 10 ccm = 0,90 $^1/_{10}$ Normal-H_2SO_4. Dass in 10 ccm der veränderten Milch 1,2 der gleichen Säurelösung gebraucht wurde, ist schon erwähnt. Hier ist auch anzubringen, dass mit Lackmustinctur blau gefärbte Nährböden, Agar und Gelatine, niemals eine Farbenänderung trotz reichlichster Bacterienvermehrung erkennen liessen.

Von Interesse ist weiter, dass in Bouillonculturen im Brütschrank eine verhältnismässig schwache Schwefelwasserstoffbildung sich nachweisen lässt; das Bleizuckerpapier war am 2. Tage am unteren Rand 1 mm breit geschwärzt, am 1. Tage war von dieser Schwärzung nichts zu sehen gewesen. Cholera asiatica (Frohnert) liess dagegen schon am 1. Tage eine kräftigere Schwarzfärbung dieses Papieres in breiterer Zone erkennen. Die Prüfung auf Methylmercaptan (CH_3SH) mit Isatin-Schwefelsäure aus Bouillonculturen ist sowohl bei unserem Vibrio wie bei der erwähnten Choleracultur auch nach 7 tägigem Aufenthalt im Brütschrank negativ ausgefallen: eine Grünfärbung der braunen Lösung beim Durchtreiben der Kolbenluft durch dieselbe war nicht zu erkennen.

Die verschiedenen Versuche, die Wirkung der Austrocknung kennen zu lernen, haben ergeben, dass ein Wachsthum auf Agar im Brütschrank schon nach einer halben Stunde nicht mehr eintritt, wenn man eine Suspension dieses Komma's in Wasser in dünnster Schicht auf dem Deckgläschen antrocknet und einzelne Stückchen desselben zur Impfung benützt.

Temperaturen von 50° C. im Wasserbade brachten auch nach 60 Minuten langer Einwirkung Bouillonculturen nicht zum Absterben, während dieselben nach Anwendung von 55° C. nach 20 Minuten noch, nach 25 Minuten nicht mehr auf Agar im Brütschrank sich vermehrten. Bei Erhitzung des Wassers auf 60° C. war schon unmittelbar, nachdem das Thermometer im

Inneren des Röhrchens diese Temperatur erreicht hatte, durch Abimpfen einer Oese der Bouillon auf Agar und Halten im Brütschrank eine Fortpflanzung nicht mehr zu erreichen.

Was das Verhalten gegen Säuren anlangt, so wurde zunächst versucht, mit Bouillonculturen zu einem Resultat zu gelangen, dieser Versuch aber, da überall in den Röhrchen starke Trübungen, Flockenbildung u. s. w. eintrat, alsbald aufgegeben. Als ausgezeichnet geeignet zu diesem Versuch erwies sich die Sander'sche Kartoffelbrühe. Es wurden folgende 9 Säuren:

Salz-, Schwefel-, Salpeter-, Phosphorsäure,

Wein-, Citronen-, Essig-, Ameisen- und Oxalsäure,

und zwar je ein, zwei und sofort bis 5 Tropfen einer 1 proc. Lösung dieser Säuren zu je 10 ccm der genau neutralen Kartoffelbrühe zugesetzt und dann bei der Prüfung der Reaction der verschiedenen Röhrchen Folgendes gefunden:

Salzsäure-Röhrchen	deutlich	blaues	Lackmusp.	rothfärb.		3—5 gtt
Schwefels.	»	»	»	»	»	2—5 »
Phosphors.	»	»	»	»	»	2—5 »
Salpeters.	»	»	»	»	»	1—5 »
Weins.	»	»	»	»	»	3—5 »
Citronens.	»	»	»	»	»	4—5 »
Essigs.	»	»	»	»	»	1—5 »
Ameisens.	»	»	»	»	»	1—5 »
Oxals.	»	»	»	»	»	3—5 »

Sämmtliche 45 Röhrchen und 10 Controllröhrchen werden aus einem Agarröhrchen mit Spuren der Vibriocultur geimpft und im Brütschrank gehalten. Die Controllröhrchen sind bereits am 1. Tage gut entwickelt, zeigen beginnende Häutchenbildung, während auf den mit Säuren versetzten Röhrchen nirgends ein deutliches Wachsthum bemerkbar ist. Am 2. Tage sind die Controllröhrchen mit einer dicken Haut überzogen und deutlich alkalisch reagirend. Die mit den Säuren versetzten Röhrchen, die mit Ausnahme der Oxalsäure-Röhrchen durch den Zusatz gar nicht verändert waren — nur diese liessen eine graue flockige Trübung, besonders an den Wandungen des Glases, erkennen — verhielten sich, wie folgt:

Salzsäure-Röhrchen	nur	»Röhrchen		1 gtt«	getrübt,	Häutchen
Schwefels.	»	»	»	1 »	»	keine Haut
Phosphors.	»	»	»	1 »	»	dicke »
Salpeters.	»	»	»	1 u. 2 »	»	auch Häutchen
Weins.	»	»	»	1 u. 2 »	»	Haut
Citronens.	»	»	»	1 u. 2 »	»	»
Oxals.	»	»	»	1 u. 2 »	»	»

Bei Oxalsäure ist »1 gtt« dickgetrübt und hat eine kräftige Haut, während »2 gtt« nur schwach getrübt ist und die Häutchenbildung erst beginnt. In ameisensäure- und essigsäurehaltigen Röhrchen ist ein Wachsthum nirgends vorhanden.

In den nächsten Tagen wurden die betreffenden Trübungen und Hautbildungen, da wo sie noch schwach gewesen, kräftig ausgebildet und damit Hand in Hand ging eine kräftige Alkalibildung. Das Resultat der Prüfung war also folgendes:

Mineralsäuren: Bei einem Gehalt des Nährbodens von 1 : 20000 noch Wachsthum, bei 1 : 10000 kein Wachsthum mehr

Ausnahme: Salpetersäure. Hier bei 1 : 10000 noch Wachsthum.

Organische Säuren: Bei einem Gehalt von 1 : 20000 gutes, von 1 : 10000 etwas verzögertes Wachsthum; bei 1 : 6500 kein Wachsthum mehr.

Ausnahmen: Essig- und Ameisensäure. Hier überhaupt kein Wachsthum mehr.

Es würde nothwendig sein, den Versuch mit Salpeter-, Essig- und Ameisensäure zu wiederholen, ehe sich ein endgültiges Urtheil fällen lässt. Immerhin dürften die mitgetheilten Versuche ergeben, dass die Widerstandsfähigkeit unseres Kommabacillus gegen Säuren eine äusserst geringe ist.

Thierversuche.

Wenn man weissen Mäusen über der Schwanzwurzel eine Oese einer frischen Agarcultur unseres Spirillum unter die Haut bringt, so heilt die Wunde bis zum nächsten Tage glatt zu, und es kommt auch später keine Störung des normalen Verlaufes der

Wundheilung zu Stande. Spritzt man Aufschwemmungen in Bouillon oder sterilem Wasser unter die Haut in kleinen oder grossen Mengen, so wird die Flüssigkeit schnell resorbirt, ohne dass wesentliche Krankheitserscheinungen sich einstellten.

Die intraperitoneale Infection von 12 weissen Mäusen wurde in der Weise vorgenommen, dass zwei je 0,5 ccm einer 24stündigen Bouilloncultur, zwei je 0,1 ccm einer gleichen Bouilloncultur mit einer 24 Stunden alten zugemischten Agarcultur, zwei je 0,25 ccm und eine 0,5 ccm derselben Mischung; zwei je 0,1 ccm einer gleich alten Bouilloncultur, der zwei 24stündige Agarculturen zugemischt waren, zwei je 0,25 ccm und eine 0,5 ccm derselben Mischung eingespritzt erhielten. An diesen Mäusen zeigten sich in den nächsten Stunden einige Krankheitserscheinungen in ziemlich gleicher Weise. Sie sassen zusammengekauert da, Kopf und Schwanzende einander genähert, mit gesträubtem Fell und geschlossenen Augen, ausserordentlich beschleunigter Respiration und einer lebhaft gesteigerten Reflexaction. Wenn man mit einem Ring oder Schlüssel an das Glas klopfte, schnellten sie stark in die Höhe, während gesunde Mäuse lange nicht so lebhaft, wenn auch deutlich, auf dies Klopfen reagiren. Später ging die gesteigerte Reflexaction in eine bedeutend herabgesetzte über, kein Klopfen und Klappern liess die Thiere irgend eine Bewegung machen, sie lagen mit ausgestreckten Beinen auf dem Bauch und rührten sich nicht. Kippte man das Glas um, so krochen sie mühsam und äusserst langsam aus ihrer unbequemen Lage heraus, manche blieben auch ganz ruhig in derselben liegen. Am stärksten waren diese Erscheinungen am nächsten Morgen nach der Einspritzung. Die beiden Thiere mit 0,5 ccm einfacher 24stündiger Bouillon starben um diese Zeit kurz nacheinander. Bei dem einen Mäuschen wurden vor dem Tode noch lebhafte klonische Krämpfe der unteren Extremitäten, als das Thier schon auf der Seite lag, beobachtet. Die Section beider Thiere ergab bis auf eine fettig degenerirte Leber des zuletzt erwähnten völlig normale Verhältnisse, vor Allem keine Spur einer peritonitischen Reizung in der Bauchhöhle. Nur die Dünndärme waren bei beiden Thieren mit einer grauweissen, milchigen Flüssigkeit

gefüllt, nicht geröthet, die Schleimhaut völlig normal. In der Brusthöhle liess sich ausser einem geringen serösen Transsudat bei beiden Thieren nichts Abnormes erkennen. Es gelang bei beiden Mäusen, aus je einer Oese Herzblut und pleuralem Transsudat, sowie aus den Spuren von Flüssigkeit, die sich von den Wandungen der Bauchhöhle abstreichen liessen, unzählige Colonien des Vibrio auf Agar zur Entwickelung zu bringen, ohne dass sich andere Bacterienarten auf den Röhrchen gezeigt hätten. Auch auf den Gelatineplatten, die aus dem Dünndarminhalt angefertigt wurden, fanden sich neben anderen Bacterien sehr zahlreich die Colonien des Vibrio.

Die übrigen Thiere blieben am Tage nach der Impfung in der beschriebenen Weise in ihren Glasgefässen liegen, wurden gegen Abend theilweise etwas lebendiger und hatten am nächsten Morgen ihre Munterkeit mit wenigen Ausnahmen fast völlig wiedererlangt.

Das Resultat war also ein sehr auffallendes. Die beiden mit den geringsten Mengen geimpften Thiere waren eingegangen, alle übrigen am Leben geblieben. Der Versuch musste wiederholt werden. Es wurden intraperitoneal eingespritzt:

2 weisse	Mäuse	mit	0,1	ccm	24stündiger Bouilloncultur.
2 „	„	„	0,25	„	
6 „	„	„	0,5	„	
3 weisse	Mäuse	mit	0,1	ccm	24stündiger Bouilloncultur mit 1 zugemischten Agarcultur 24 Stunden alt.
2 „	„	„	0,25	„	
3 weisse	Mäuse	mit	0,1	ccm	24stündiger B.-C. mit 2 gleichalten zugemischten Agarculturen.
2 „	„	„	0,25	„	

Die Krankheitserscheinungen bei den inficirten Mäusen waren genau dieselben, wie beim ersten Versuch, hielten jedoch nicht ganz so lange an, und alle Thiere blieben am Leben.

Es wurden nun zwei weissen Mäusen und zwei Feldmäusen je eine Hälfte der ersten gestorbenen Maus in den Käfig gelegt. Die Thiere machten sich sofort daran, das Gehirn bezw. die Baucheingeweide zu verzehren, so dass ein Hineingelangen von

Kommabacillen in den Darmkanal nicht unwahrscheinlich war. Wirklich zeigten auch die Thiere, die vorher äusserst munter gewesen waren, nach einiger Zeit, etwa 24 Stunden, alle vier das oben skizzirte Krankheitsbild. Der Unterschied war nur, dass bei ihnen das Unbehagen entschieden wesentlich länger dauerte. Noch nach vier Tagen lagen die Thiere, ohne sich zu rühren, auf dem Bauche und erst am 5. Tage liess sich allmählich die alte Beweglichkeit wieder blicken.

Zehn Feldmäuse, denen je 0,1 ccm—0,5 ccm 24stündiger Bouilloncultur in die Bauchhöhle gespritzt wurde, blieben völlig munter und zeigten niemals Krankheitserscheinungen. Ebenso verhielten sich eine weisse und eine bunte Ratte nach intraperitonealer Infection.

Brachte man Meerschweinchen tüchtige Mengen einer frischen Agarcultur in eine Hauttasche am Bauche, so heilte die Wunde anstandslos, das Thier zeigte niemals die geringsten Krankheitserscheinungen, auch keine Temperaturveränderung. Auch wenn man frische Bouillonculturen in grösseren Mengen unter die Haut der Rippen auf der linken Seite einspritzte, liess sich eine wesentliche Veränderung bei den Thieren nicht erkennen.

Nr.	Gewicht	Temperatur	Menge der 24 stünd. Bouilloncultur	Temperatur nach					Gew. nach 20 Std.
	vor d. Einspritzung			2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std.	20 Std.	
	g		ccm						g
1	185	38,5	2,0	39,0	39,4	39,0	38,4	38,4	180
2	181	38,4	2,5	38,9	39,2	39,4	39,0	38,3	170
3	190	38,1	3,0	38,3	38,9	39,2	39,8	38,9	175
4	195	38,1	3,5	38,7	39,1	39,5	39,1	38,6	184
5	250	38,3	4.0	39,1	39,5	39,5	39,2	38,8	232

Es ist also bei diesen Thieren ausser der geringen Gewichtsabnahme nur eine zum Theil nicht unbeträchtliche Temperaturerhöhung zu constatiren.

Bringt man Meerschweinchen nach Art der intrastomachalen Cholerainfection Sodalösung in den Magen und darauf nach einiger Zeit die Bouilloncultur, so ist deutlich eine Herabsetzung der Temperatur zu beobachten.

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std.	20 Std.	Gew. nach 20 Std
	g								g
6	770	38,0	5,0 ccm 5 proc. Sodalösung 5,0 ccm 24 stünd. B.-C. in den Magen Tinct. Op. simpl. 2,5 ccm i. p.	38,2	37,9	37,5	38,7	38,8	730

Das Thier bleibt am Leben. Dieser eine Infectionsversuch vom Magen aus beweist natürlich gar nichts, da es ja möglich wäre, dass das betreffende Thier irgendwie eine natürliche Immunität gegen die vielleicht durch unser Komma hervorgerufene Erkrankung gehabt habe. Es kam auch nur darauf an, den Eintritt der Temperaturherabsetzung zu zeigen.

In sehr viel deutlicherer Weise erhielt man diese Erniedrigung der Temperatur, wenn die Infection mit 24 stündigen Bouillonculturen intraperitoneal erfolgte.

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit 24 st. B.-C.	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std.	20 Std.	Gew. nach 20 Std.
	g		ccm						g
7	504	38,5	0,5	38,5	37,9	37,5	38,3	38,5	485
8	422	38,4	1,0	38,7	38,0	37,2	37,9	38,1	400
9	390	38,6	1,5	38,8	37,6	36,9	38,0	38,2	374

Derartige Temperaturherabsetzungen nach so geringen Mengen 24 stündiger Bouillonculturen sind uns bei Choleraculturen niemals begegnet. Diese eben mitgetheilten Impfungen sind vorgenommen kurze Zeit, nachdem der Kommabacillus aus dem Wasser isolirt war. Seitdem hat seine erwähnte Eigenschaft, die Temperatur der Versuchsthiere bei intraperitonealer Einverleibung herabzusetzen, entschieden abgenommen, wie 2 Monate später vorgenommene Versuche lehren.

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit 24 st. B.-C.	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std	20 Std.	Gew. nach 20 Std.
	g		ccm						g
10	275	38,4	2,0	38,7	38,0	37,6	38,7	38,5	270
11	278	38,6	2,5	38,7	37,9	37,6	38,6	38,7	270
12	290	38,4	3,0	38,5	37,8	37,0	38,2	38,2	276
13	282	38,1	3,5	37,7	36,8	36,2	37,8	38,4	278
14	294	38,4	4,0	37,1	36,3	36,6	39,0	38,7	281

Ganz anders verhielten sich die Thiere, wenn ihnen abgeschabte Agarculturen dieses Komma's, auch in grösseren Mengen, in die Bauchhöhle eingespritzt wurden.

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std.	20 Std.	Gew. nach 20 Std.
	g								g
15	381	38,6	1/6 Ag.-C. 24 St. alt i. p.	38,6	38,6	38,8	38,9	38,6	370
16	524	38,5	1/3 »	38,2	38,7	38,6	38,4	38,9	504
17	485	38,2	2/3 »	38,3	39,2	39,3	38,0	38,1	458
18	648	38,4	1/2 »	38,2	39,1	38,9	38,2	38,2	638
19	695	38,1	1/3 »	38,2	39,0	39,0	38,0	38,3	654

Die Gewichtsabnahme war also eine sehr viel grössere, während die Temperatur nicht nur nicht herab, sondern eher in die Höhe ging. Dass die Bouillon nicht etwa an der Herabsetzung der Temperatur schuld war, zeigten Injectionen derselben ungeimpften Bouillon an Controlthieren.

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std.	20 Std.	Gew. nach 20 Std.
	g								g
20	394	38,3	2,0 ccm ung. B.	39,9	39,2	38,7	38,4	38,3	385
21	558	38,6	2,5 » »	40,5	39,5	39,3	38,8	38,4	521
22	601	38,5	3,0 » »	39,3	37,5 partus	38,0	38,2	38,3	520
23	610	38,4	3,5 » »	38,1	38,8	39,1	38,3	38,5	606
24	755	38,7	4,0 » »	40,5	40,0	39,6	38,1	38,6	712

Wenn an den Bacterienleibern selbst die Temperatur herabsetzende Eigenschaft nicht haftete, wie die Versuche mit Agarculturen gelehrt hatten, so fragte es sich, ob die in der Bouillon erzeugten Stoffwechselproducte Anspruch auf diese Fähigkeit machen konnten.

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std.	20 Std.	Gew. nach 20 Std.
	g								g
25	198	38,2	2,0 ccm 24 st. frisch filtrirt B.-C. (Müncke)	38,4	38,5	38,6	39,2	38,8	192
26	204	38,4	2,5 » »	38,9	39,2	39,5	38,6	38,3	190
27	212	38,3	3,0 » »	37,5	37,2	39,0	38,1	38,1	204
28	214	38,4	3,5 » »	37,5	37,4	38,9	38,2	38,0	210

Es lässt sich also in der That in grösseren Mengen derartiger, übrigens als keimfrei erwiesener Bouillon dieselbe Eigenschaft nachweisen. Vielleicht war ältere Bouillon noch mehr zu einem solchen Versuche geeignet.

Nr	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std	18 Std.	20 Std.	Gew. nach 20 Std.
	g								g
29	230	38,2	2,0 ccm 4 Wochen alter filtr. B.-C.	38,1	38,4	38,4	38,2	38,3	218
30	231	38,1	2,5 » »	37,5	38,6	38,4	38,1	38,3	228
31	315	38,6	3,0 » »	38,8	38,7	38,5	38,8	38,4	306
32	332	38,2	3,5 » »	37,3	38,0	38,1	38,3	38,3	330
33	385	38,8	4,0 » »	39,2	38,2	37,9	38,6	38,4	368

In 4 Wochen alter und durch ein Müncke'sches Filter geschickter Bouillon waren kaum noch Spuren dieser Eigenschaft vorhanden. Es ist aus der oben gegebenen Beschreibung der Wachsthumsverhältnisse erinnerlich, dass in Bouillon am 2. Tage eine stärkere Vermehrung als am 1. Tage vorhanden ist. Wie verhielt sich die 2 Tage alte Bouilloncultur?

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std.	20 Std	Gew. nach 20 Std.
	g								g
34	410	38,6	2,0 ccm 48 st. B.-C.	38,7	39,3	39,0	38,2	38,3	401
35	374	38,2	2,5 » »	37,8	37,0	36,5	38,7	38,8	370
36	261	38,2	3,0 » »	38,8	39,2	38,0	37,9	38,1	249
37	255	38,4	3,5 » »	38,0	39,1	38,9	38,0	37,9	242
38	254	38,3	4,0 » »	38,9	37,0	37,1	38,0	38,3	250

Mit Ausnahme des letzten Thieres zeigt sich bei keinem noch die Temperaturverminderung, denn Nr. 35 kann nicht in Betracht kommen, da es am nächsten Tage nach einem starken Durchfall an einer Infection einging, die mit unserem Kommabacillus nichts zu thun hatte. Es blieb nun noch die Frage zu erledigen, wie sich erhitzte und dann durch Muncke'sches Filter geschickte Bouillonculturen verhielten.

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpt mit 24 st. B.-C.	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std	20 Std.	Gew. nach 20 Std.
	g								g
39	258	38,5	2,0 ccm 24 st. B.-C. (1/2 Stde. auf 75° C. erhitzt)	37,9	39,3	39,0	38,2	38,4	253
40	235	38,5	2,5 » »	37,9	39,4	39,1	38,3	38,5	230
41	218	38,2	3,0 » »	37,8	39,0	39,4	38,0	38,0	203
42	212	38,3	3,5 » »	37,7	39,0	38,0	37,5	37,9	205
43	224	38,7	4,0 » »	37,6	39,9	37,7	37,6	37,5	204
44	201	38,4	2,0 ccm 24 st. B.-C. (1/2 Stde. auf 75° C. erhitzt und dann durch Müncke filtrirt)	38,1	38,6	38,6	38,8	38,3	197
45	280	38,7	2,5 » »	38,4	38,4	38,7	38,3	38,4	262
46	303	38,7	3,0 » »	38,0	38,9	39,0	38,7	38,3	294
47	291	38,4	3,5 » »	38,0	39,2	39,0	38,0	38,2	270
48	306	38,3	4,0 » »	37,9	39,2	39,2	37,8	37,9	292

Die einfach erhitzte Bouillon zeigt also in leidlicher Deutlichkeit noch dieselbe Eigenschaft, wenn auch viel weniger intensiv und viel kürzere Zeit anhaltend als bei der nicht erhitzten Bouillon. Auffallend war bei den mit grösseren Mengen behandelten Thieren der nochmalige Temperaturabfall gegen Abend des Impftages, der auch am folgenden Morgen noch zu notiren war, womit freilich nicht gesagt sein soll, dass in der Nacht eine ähnliche Temperatur constant gewesen sei. Dieselbe kann ja ebenso gut weit niedriger oder auch höher gewesen sein. Dieselben Erscheinungen, in noch abgeschwächterem Maasse, sind auch bei der filtrirten erhitzten Bouillon zu konstatiren.

Es war noch von Interesse zu erfahren, ob nur in der Bouillon, oder ob auch in anderen z. B. eiweissfreien Nährlösungen Stoffwechselproducte derselben Art gebildet wurden:

Nr.	Vorher Gew.	Vorher Temp.	Geimpft mit 24 st. B.-C.	Temperatur nach 2 Std.	4 Std.	6 Std.	18 Std.	20 Std.	Gew. nach 20 Std.
	g								g
49	205	38,5	2,0 ccm 24 st. Kartoffelbrühe i. p.	38,6	38,9	39,5	38,6	38,4	195
50	228	38,3	2,5 » »	38,2	38,9	39,4	38,1	38,0	225
51	208	38,3	3,0 » »	38,3	38,0	37,8	37,9	38,3	200
52	336	38,4	3,5 » »	38,2	37,5	37,6	38,1	38,8	335
53	364	38,5	4,0 » »	38,0	37,0	37,1	38,0	38,7	351

Also auch hier, wenn auch in bedeutend geringerem Maasse, dieselbe Erscheinung.

Es erübrigt noch, mitzutheilen, dass die Thiere, über welche im Vorstehenden berichtet wurde, meist nach 2—3 Tagen ihr Anfangsgewicht erreicht oder überschritten hatten und stets normale Temperatur zeigten und völlig munter waren.

Hochgradig pathogen also ist unser Kommabacillus für Meerschweinchen auf keinen Fall. Dass jedoch grössere Mengen von Bouillon-Agarcultur auf dieselben von deletärem Einfluss sind, mag folgende Angabe beweisen. Zu 10 ccm 24-stündiger Bouilloncultur wurden die abgeschabten Bacterienmassen von 5 Agarröhrchen, die ebenfalls 24 Stunden bei 37° C. gehalten waren, zugesetzt. Von dieser Culturflüssigkeit erhielt

54. 690 g. 38,3. 0,1 ccm 38,6. 37,2. 35,6. Nächsten Morgen †
55. 770 g. 38,7. 1,5 ccm 36,4. 35,5. 33,0. „ „ †

Der Befund war genau der bei intraperitoneal inficirten Cholera-Meerschweinchen: kolossale Peritonitis, Blutungen im Muskelgewebe, pleurale und pericardiale Transsudate. Unsere Komma's liessen sich in allen Ergüssen, im Herzblut, Darminhalt in kolossalen Mengen nachweisen. Dass dieser Befund nicht irgend etwas für die Cholera Specifisches ist, vielmehr bei der intraperitonealen Infection mit den verschiedensten Organismen vorkommt, ist schon lange bekannt.

Bei Kaninchen sind kaum Versuche angestellt worden. Von der eben erwähnten Culturflüssigkeit wurden eingespritzt intraperitoneal:

1. 1850 g. 39,2. 0,5 ccm 38,8. 37,4. 36,7. 38,8. 39,4. 1895 g.
2. 2280 g. 39,0. 5,0 ccm 38,5. 38,0. 36,5. †.

Auch bei dem letzten Thiere unterschied sich der Befund in nichts von dem bei den Meerschweinchen erhobenen, auch hier wurden in allen Ergüssen, Blut und Därme, die Komma's nachgewiesen.

Es war mir von Interesse, zu prüfen, wie sich unser Kommabacillus Vögeln gegenüber verhalten würde. Es wurden deshalb geimpft in den Brustmuskel 2 Hühner, 2 Tauben, 2 Kanarien-

vögel, und zwar je eins mit 0,1 ccm einer 24stündigen Bouilloncultur und mit 0,1 ccm derselben mit einer zugemischten gleichalterigen Agarcultur. Von diesen Thieren erkrankten die Hühner gar nicht, die Tauben sassen 2 Tage still und wurden erst am 3. Tage wieder munter, und von den Kanarienweibchen wurde eines am Tage nach der Impfung todt gefunden, das mit der grösseren Menge Cultur geimpfte. Dasselbe war ungeschickt geimpft worden, war schon gleich hinterher nicht munter, hatte fliegende Atmung und sass ganz still, den Kopf in den Federn. Bei der Section fand sich an der Impfstelle im Brustmuskel geronnenes Blut, in demselben im gefärbten Präparat massenhaft Kommabacillen. Die Lungen sind beiderseits hyperämisch und frisch mit der Brustwand verwachsen. In einem Ausstrichpräparat aus dem Saft der linken Lunge werden zahlreiche Komma's nachgewiesen. Mit je einer Oese Herzblut und Darminhalt geimpfte Agarröhrchen zeigen neben anderen Bacterienarten reichliche Colonien des Kommabacillus.

Weiter wurden geimpft in die Bauchhöhle 2 Hühner, 2 Tauben und 8 Kanarienvögel mit wechselnden Mengen von Bouillonculturen. Die Hühner waren stets munter, die Tauben sassen einen Tag still, waren dann wieder ganz munter, von den Kanarienvögeln sterben zwei mit 0,5 ccm Bouilloncultur (24 Stunden alt) geimpfte nach 20 Stunden, während 2 ebenso und 4 mit geringeren Mengen geimpfte am Leben bleiben. Der Befund der Gestorbenen war völlig negativ, dagegen liessen sich in allen Organen, im Herzblut und Darminhalt durch Cultur und Ausstrichpräparat Reinculturen des Vibrio nachweisen.

Es wurde auch bei Tauben und Kanarienvögeln versucht, eine Infection mit dem Wasser zu erzielen, indem letzterem grössere Mengen von abgeschabten Agarculturen zugesetzt wurden. Die Tauben waren stets munter, von den beiden Kanarienweibchen, die beide eifrig von dem Wasser genossen hatten, starb am nächsten Tage das eine ganz plötzlich, nachdem es noch eine Stunde vorher scheinbar ganz munter gewesen war. In einem Ausstrichpräparat aus dem Dünndarminhalt fand sich Reincultur unseres Komma, dagegen auf einem Agarröhrchen, das

mit einer Oese Darminhalt aus dem Enddarm geimpft war, nur sehr spärliche Colonien desselben neben massenhaften anderen Bacterien.

So ist also auch in diesen Versuchen ein gleichmässiges Resultat nicht erzielt worden, es wird noch weiterer Versuche bedürfen, um über die fraglichen krankheitserregenden Eigenschaften unseres Vibrio in's Klare zu kommen.

Es ist dem Verf. Bedürfnis, bevor er die Arbeit schliesst, dem Director des hygienischen Instituts, Herrn Professor Rubner, auch an dieser Stelle seinen herzlichsten Dank abzustatten für die jederzeit erhaltene freundliche Unterstützung mit Rath und That in allen Fällen, wo Unklarheiten und Schwierigkeiten sich darboten.

Beiträge zur Biologie der Vibrionen.

Von

Dr. J. Kuprianow.

I. Mittheilung.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Berlin.)

Die Untersuchungen von Bitter[1]), Kitasato[2]) u. A. haben festgestellt, dass durch die Lebensthätigkeit des Koch'schen Vibrio der asiatischen Cholera in zuckerhaltigen Nährlösungen Säure entsteht. Dasselbe gilt nach den Veröffentlichungen von Sclavo[3]) auch von dem Vibrio Finkler-Prior, dem Vibrio Metschnikoff und dem Vibrio Deneke. Während über die Natur der Säuren, welche die letzterwähnten Mikroorganismen bilden, nichts bekannt ist, findet sich in der Literatur hier und da die Angabe, dass der Koch'sche Vibrio Milchsäure producire.

Es erschien aus theoretischen und vielleicht auch aus praktischen Gründen von Interesse, zu ermitteln, ob die morphologisch zu derselben Gruppe gehörenden Bacterien alle dieselbe Säure resp. dieselben Säuren bilden oder ob sich Unterschiede feststellen lassen.

Die Untersuchungen wurden am Vibrio der asiatischen Cholera, Vibrio Finkler-Prior, Vibrio Metschnikoff, Vibrio Deneke und Vibrio aquatilis[4]) angestellt; sie mögen jetzt zunächst mitgetheilt werden.

---

1) Archiv f. Hyg., Bd. V, S. 241.

2) Zeitschr. f. Hyg., Bd. V, S. 491.

3) Ministero dell' Interno. Laboratori scientifici della direzione di sanità 1892. Ref. in Hyg. Rundschau 1893, S. 256.

4) C. Günther, Deutsche medic. Wochenschr. 1892, S. 1124.

Die Culturflüssigkeit hatte dieselbe Zusammensetzung, wie diejenige, welche Nencki und seine Schüler benutzt haben, um die Einwirkung anderer Bacterien auf Kohlehydrate zu studiren; sie enthielt 1 % Pepton, 5 % Glucose und 2,5 % Calciumcarbonat, ausserdem, da besonders die Cholerabacterien eine alkalische Reaction der Nährlösung verlangen, eine hinreichende Menge von Natriumcarbonat.

Die Anwesenheit des Alkali hatte zur Folge, dass während der Sterilisation im Dampftopfe eine starke Zersetzung des Zuckers, die sich durch dunkelbraune Färbung der Flüssigkeit zu erkennen gab, eintrat. Um dies zu vermeiden, sterilisirte ich die mit kohlensaurem Kalk versetzte Pepton-Zuckerlösung und die für die Alkalisirung nöthige Menge Sodalösung in getrennten Kolben und goss nach dem Abkühlen die Flüssigkeiten unter Anwendung aller möglichen Vorsichtsmaassregeln zusammen. Die Lösung erschien jetzt allerdings wesentlich heller, aber eine schwache Braunfärbung war beim Erhitzen der Pepton-Zuckerlösung doch eingetreten, ausserdem entstand auf Zusatz der Sodalösung eine Trübung, und diese Trübung, welche sich nur schwer und unvollkommen zu Boden setzte, war für die Beurtheilung, ob nach der Impfung Wachsthum der eingebrachten Keime eingetreten war, oder nicht, sehr hinderlich; schliesslich kam es wiederholt vor, dass beim Zusammengiessen der Flüssigkeiten Keime aus der Luft eintraten und den ganzen Versuch unbrauchbar machten. Um alle diese Uebelstände zu vermeiden, habe ich mich für die späteren Experimente folgenden Verfahrens bedient, welches mir sehr empfehlenswerth zu sein scheint.

Ein ca. 4 l haltender Kolben *A*, welcher für die Cultur dienen soll, wird mit einem gut passenden, doppelt durchbohrten Kautschukstopfen versehen; in den beiden Bohrungen befinden sich Glasröhren, die eine derselben ist im rechten Winkel gebogen, schneidet kurz unter dem Stopfen ab und ist nach aussen durch einen Wattebausch abgeschlossen, die andere ist gerade, ragt einige Centimeter in den Kolbenhals hinein und trägt am äusseren Ende einen Gummischlauch, welcher seinerseits wieder mit einem kurzen, durch einen Wattebausch abgeschlossenen

Glasrohr verbunden ist; der Kolben *B* ist ebenfalls durch einen doppelt durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen; von den beiden Glasröhren, welche in den Bohrungen stecken, ist die eine in nach unten spitzem, die andere im rechten Winkel gebogen; die erstere (*a*) reicht bis auf den Boden des Kolbens, ihr äusseres Ende ist mit einem kurzen durch ein Glasrohr geschlossenen Gummischlauch versehen, die andere (*b*) ragt nur wenig in den Kolben hinein und ist nach aussen durch einen Wattebausch abgeschlossen. Ganz in derselben Weise wie dieser Kolben *B* ist ein Reagenzglas *C* armirt.

Die so hergerichteten Kolben wurden mit allem Zubehör sterilisirt und dann in folgender Weise benützt. In den Kolben *A* kamen 1000 ccm Wasser, 75 g Calciumcarbonat und 1000 ccm einer alkalischen Peptonlösung; um dieselbe herzustellen, löste man 30 g Pepton in 1 l Wasser, fügte 90 ccm einer Normalsodalösung[1]) hinzu und filtrirte von der entstandenen Trübung ab. In den Kolben *B* brachte man einen Liter einer 15proc. Glucoselösung. Nachdem die Kolben mit den zugehörigen Stopfen verschlossen waren, wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 3 Stunden sterilisirt und nun die Ueberführung des Inhalts des Kolbens *B* in den Kolben *A* vorgenommen. Zu dem Zweck zog ich das Glasröhrchen aus dem Gummischlauch des Kolbens *A* heraus, schob diesen sofort über das vom Gummischlauch befreite und in der Flamme vorsichtig sterilisirte Glasrohr *a* des Kolbens *B* und trieb durch Blasen in das Glasrohr *b* des Kolbens *B* und durch Heberwirkung die Flüssigkeit des Kolbens *B* in den Kolben *A* über. Jetzt wurde die Verbindung wieder gelöst und das in der Flamme sterilisirte Glasröhrchen in den Gummischlauch eingeschoben.

Der Kolben *A* enthielt nun eine vollkommen klare Flüssigkeit von bernsteingelber Farbe und der gewünschten Zusammensetzung und Reaction. Man liess einige Tage zur Beobachtung bei Brutwärme stehen; zeigte sich keine Spur einer Trübung, so wurde die Impfung vorgenommen und zu dem Zweck aus dem

1) Diese Menge war gerade erforderlich, um in einer Lösung, welche 30 g Witte'sches Pepton enthält, den richtigen Alkalescenzgrad herzustellen.

Reagenzrohr *C* eine Reincultur des betreffenden Vibrio in schwach alkalischer Pepton-Zuckerlösung ganz in der eben beschriebenen Weise in die Culturflüssigkeit eingebracht.

Der Kolben, dessen Stopfen der grösseren Vorsicht wegen noch mit Paraffin übergossen wurde, kam nun in ein grosses Wasserbad; dasselbe bot Platz für 5 Kolben, so dass sämmtliche 5 Vibrionen gleichzeitig untersucht werden konnten. Die Temperatur schwankte zwischen 29° und 35°, jeden zweiten Tag wurden die Kolben durchgeschüttelt, um die gebildete Säure durch den kohlensauren Kalk zu neutralisiren. Nach 3 Wochen beendigte ich den Versuch und prüfte zunächst mittels des Plattenverfahrens auf Reincultur. War diese konstatirt, so ging ich an die Untersuchung des Kolbeninhalts, und zwar wurde zunächst in einer kleinen, abgemessenen Portion die Menge des unzersetzten Zuckers durch Titration mit Fehling'scher Lösung bestimmt. In Bezug auf die weitere Untersuchung hielt ich mich an die von Nencki[1]) gegebenen Vorschriften: Die Flüssigkeit wird vom kohlensauren Kalk abgegossen und mit Oxalsäure im Ueberschuss gefällt, das Filtrat vom Kalkoxalatniederschlag der Destillation unterworfen; dabei gehen etwa vorhandene flüchtige Säuren und Alkohole über; durch abermalige Destillation des alkalisch gemachten Destillats trennt man die Alkohole, welche flüchtig sind, von den Fettsäuren, die als Natronsalze zurückbleiben. Die Alkohole werden durch wiederholte Destillation concentrirt. Die die fettsauren Alkalien enthaltende Flüssigkeit wird angesäuert und abermals destillirt. Der von fetten Säuren und Alkoholen befreite Kolbenrückstand wird auf dem Wasserbad zum dünnen Syrup (es ist nicht praktisch, zu sehr einzuengen, da einem zu concentrirten Syrup die Milchsäure nicht gut entzogen werden kann) eingedampft und wiederholt mit grossen Mengen Aether ausgeschüttelt. In den Aether gehen Milchsäure, Bernsteinsäure und überschüssig zugesetzte Oxalsäure hinein; man destillirt den Aether ab, es hinterbleibt ein syrupartiger Rückstand, der in Wasser gelöst und mit Zinkcarbonat gekocht wird.

1) Centralbl. f. Bact. u. Parasitk., Bd. IX, S. 304.

Beim heissen Filtriren bleibt die Hauptmenge des oxalsauren Zinks zurück, in das Filtrat gehen milchsaures Zink, bernsteinsaures Zink und eine geringe Menge oxalsaures Zink über; beim Einengen scheiden sich diese Salze ab; behandelt man sie nochmals mit heissem Wasser, so bleibt das oxalsaure Zink ungelöst. Um das schwerlösliche bernsteinsaure Zink von dem viel leichter löslichen milchsauren Zink zu trennen, verdunstet man die Flüssigkeit auf dem Wasserbad zur Trockne und krystallisirt den Rückstand aus wenig heissem Wasser um, wobei dann allein das milchsaure Salz in Lösung geht. Durch Behandlung mit Thierkohle in der Wärme erhält man eine farblose Flüssigkeit, aus der sich das Salz als rein weisse krystallinische Masse abscheidet.

Nach dieser Beschreibung der von mir benutzten Methode wende ich mich jetzt zu den einzelnen Versuchen.

Vibrio cholerae asiaticae. Wachsthum sehr gut, Häutchenbildung an der Oberfläche; gegen Ende des Versuchs sah man Kohlensäurebläschen in der Flüssigkeit aufsteigen. Die Titration ergab 3,07 % Glucose, es waren also 1,93 % oder 57,9 g zersetzt.

Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren waren 11,1 ccm 1/10 Normalnatronlauge erforderlich; Essigsäure und Ameisensäure liessen sich nicht nachweisen. Bernsteinsäure wurde nicht gefunden. Die Untersuchung auf Alkohole musste unterbleiben, da die Culturflüssigkeit vor Beginn der Verarbeitung aufgekocht war, um die Keime abzutödten. Die Quantität des durch wiederholtes Umkrystallisiren rein weiss erhaltenen Zinksalzes betrug 7,9835 g; löste man eine kleine Menge davon in warmem Wasser, und brachte die Lösung auf einen warmen Objectträger, so schieden sich beim Verdunsten schöne nadelförmige Krystalle, welche von einem Punkt radienförmig ausstrahlten, ab.

0,3825 g lufttrocknes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,3345 g. Der Wasserverlust betrug also 12,55 %.

0,556 g lufttrocknes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,487 g. Der Wasserverlust betrug also 12,41 %.

0,3825 g lufttrocknes Salz hinterliessen beim Glühen 0,1125 g ZnO = 29,41 ZnO
0,556 » » » » » » 0,1605 » » = 28,87 »

Die zur Polarisation benützte wässerige Lösung bewirkte im 2 dcm langen Rohre des Laurent'schen Halbschattenapparats bei Anwendung von Natriumlicht eine Ablenkung von + 41'. Die in dem Rohre befindliche Menge Zinksalz betrug, wie durch Wägung des Lösungsrückstandes festgestellt wurde, 0,6000 g, der Inhalt des Rohres 13 ccm.

Unter Zugrundelegung der Formel $(\alpha)D = + \frac{v a}{p l}$, in der v den Inhalt des Rohres in Cubikcentimetern, p das Gewicht der in ihm enthaltenen polarisirenden

Substanz, l die Länge des Rohres in Decimetern, und α die abgelesene Drehung bedeutet, ergibt sich für das Zinksalz die specifische Drehung $(\alpha)D = +7,4$.

Vibrio Finkler-Prior. Wachsthum sehr gut. Die Titration ergab 4,12 % Glucose, es waren also 0,88 % oder 26,4 g zersetzt.

Zur Neutralisation der flüchtigen Säuren waren nur wenige $^1/_{10}$ ccm einer $^1/_{10}$ Normalnatronlauge erforderlich, Alkohole oder richtiger Jodoform gebende Substanz wurde nur in Spuren, Bernsteinsäure gar nicht gefunden. Die Quantität des Zinksalzes betrug 3,07 g, Krystallform wie bei Vibr. chol. asiat.

0,3015 g lufttrocknes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,2635 g. Der Wasserverlust betrug also 12,6 %.

0,4145 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,3615 g. Der Wasserverlust betrug also 12,79 %.

0,3015 g lufttrocknes Salz hinterliessen beim Glühen 0,0870 g ZnO = 28,86% ZnO
0,4145 » » » » » » 0,1205 » » = 29,07 » »

Die abgelesene Drehung betrug + 36′, die Quantität des in Lösung befindlichen Salzes, welche in diesem und den folgenden Versuchen in der oben beschriebenen Weise ermittelt wurde, 0,523 g. Also $(\alpha)D = +7,46$.

Vibrio Metschnikoff. Wachsthum sehr gut. Die Titration ergab 4,06 % Glucose, es waren also 0,94 % oder 28,2 g zersetzt. Von flüchtigen Säuren und Jodoform gebender Substanz nur Spuren, Bernsteinsäure nicht gefunden. Die Quantität des Zinksalzes betrug 1,7 g. Krystallform wie oben.

0,289 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,252 g. Der Wasserverlust betrug also 12,8 %.

0,218 g lufttrocknes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,190 g. Der Wasserverlust betrug also 12,84 %.

0,289 g lufttrocknes Salz hinterliessen beim Glühen 0,0845 g ZnO = 29,24% ZnO
0,218 g » » » » » 0,0625 » » = 28,67 » »

Die abgelesene Drehung betrug + 15′, die Quantität des gelösten Salzes 0,2103 g; also $(\alpha)D = +7,73$.

Vibrio Deneke. Wachsthum erst nach wiederholter Impfung und nur sehr kümmerlich. Die Titration ergab 4,33 % Glucose, es waren also 0,67 % oder 20,1 g zersetzt. Von flüchtigen Säuren und Jodoform gebender Substanz nur Spuren, Bernsteinsäure nicht gefunden. Die Quantität des Zinksalzes betrug 1,088 g, Krystallform wie oben.

0,3415 g lufttrocknes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,2975 g. Der Wasserverlust betrug also 12,88 %.

0,1945 g lufttrocknes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,1700 g. Der Wasserverlust betrug also 12,60 %.

0,3415 g lufttrocknes Salz hinterliessen beim Glühen 0,099 g ZnO = 28,99% ZnO
0,1945 » » » » » » 0,0555 » = 28,53 » »

Die abgelesene Drehung betrug — 35′, die Quantität des gelösten Salzes 0,5225 g. Also $(\alpha)D = -7,25$.

Vibrio aquatilis. Wachsthum ziemlich gut. Die Titration ergab 3,98 % Glucose, es waren also 1,02 % oder 30,6 g zersetzt. Von flüchtigen Säuren und Jodoform gebender Substanz nur Spuren, Bernsteinsäure nicht gefunden. Die Quantität des Zinksalzes betrug 2,882 g. Die Krystalle, welche

sich beim langsamen Verdunsten einer warmen Lösung auf erwärmtem Objectträger bildeten, waren ebenfalls Nadeln, aber grösser, dicker, besser ausgebildet und ebenfalls in Büscheln zusammenliegend.

0,3395 g lufttrocknes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,2790 g. Der Wasserverlust betrug also 17,82 %.

0,3840 g lufttrocknes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,3160 g. Der Wasserverlust betrug also 17,71 %.

0,3395 g lufttrocknes Salz hinterliessen beim Glühen 0,0920 g ZnO = 27,10% ZnO
0,3840 » » » » » » 0,1045 » » = 27,2 » »

Bei der Polarisation erwies sich die Lösung des Salzes als optisch inactiv.

Die folgende Tabelle gibt eine Zusammenstellung der erhaltenen Resultate.

Vibrio	Zersetzte Zuckermenge in g	Menge des Zinksalzes in g	Krystallwasser in % (Mittelzahlen)	Zinkoxyd in % (Mittelzahlen)	Specifische Drehung d. Zinksalzes (α)D	Menge der freien Milchsäure in g
						g
Koch	57,9	7,9835	12,48	29,14	+ 7,40	5,15
Finkler-Prior .	26,4	3,07	12,695	28,965	+ 7,46	2,0
Metschnikoff .	28,2	1,7	12,82	28,955	+ 7,73	1,1
Deneke . .	20,1	1,088	12,74	28,76	— 7,25	0,71
aquatilis . .	30,6	2,882	17,765	27,15	± 0	1,75

Gährungsmilchsaures Zink krystallisirt mit 3 Molekülen Krystallwasser, enthält also 18,18% Krystallwasser, liefert beim Glühen 27,27% ZnO und ist optisch inactiv.

Optisch actives milchsaures Salz krystallisirt mit 2 Molekülen Krystallwasser, enthält also 12,9% Krystallwasser, liefert beim Glühen 29,03% ZnO und hat die specifische Drehung $(\alpha)D = \pm 7{,}65$.

Vergleicht man diese Werthe mit den von mir gefundenen, so ergibt sich ohne Weiteres, dass vom Vibrio aquatilis inactive Milchsäure gebildet worden ist, von den übrigen 4 active und zwar vom Vibrio Deneke die rechts drehende, vom Vibrio Koch, Vibrio Finkler-Prior und Vibrio Metschnikoff die links drehende Modification.

Der Vibrio Koch hat am meisten Zucker zerstört und am meisten Milchsäure gebildet. Der Vibrio Deneke hat am wenigsten Zucker zersetzt und dementsprechend auch am wenigsten Milchsäure gebildet. In den übrigen 3 Versuchen geht aber Verbrauch von Zucker und Bildung von Milchsäure durchaus nicht Hand in Hand. Es müssen ausser der Milchsäure noch andere Producte in wechselnder Menge entstehen.

Es könnte der Einwand gemacht werden, dass die Milchsäure nicht durch die Lebensthätigkeit der Bacterien, sondern durch Alkalieinwirkung entstanden sei. Von Nencki und Sieber[1]) rührt bekanntlich die Beobachtung her, dass Aetzkali nicht nur bei hohen Temperaturen, wie Hoppe-Seyler[2]) zuerst fand, sondern schon bei Bruttemperatur Zucker in Gährungsmilchsäure umwandelt. Nencki und Sieber geben zwar an, dass kohlensaure Alkalien diese Zersetzung nicht bewirken, aber es schien trotzdem nicht ausgeschlossen, dass während der langen Dauer unserer Versuche (3 Wochen) doch vielleicht eine Einwirkung des kohlensauren Alkalis auf den Zucker in dieser Richtung stattgefunden habe und dass erst secundär aus der gebildeten Gährungsmilchsäure unter dem Einfluss der Bacterien Links- resp. Rechtsmilchsäure entstanden sei. Ich habe deswegen zur Controlle eine in der beschriebenen Weise sterilisirte Lösung von der gleichen Zusammensetzung 3 Wochen der Bruttemperatur im Wasserbad ausgesetzt. Bei der Untersuchung fand sich keine Spur von Milchsäure. Ein weiterer Versuch wurde angestellt, um zu entscheiden, ob die Vibrionen, speciell der Vibrio Koch, auch in einer Nährflüssigkeit, welche keinen Zucker enthält, Milchsäure bilden. Ich erhielt eine ganz kleine Portion eines Zinksalzes, dessen Krystallform an die des Zinklactates erinnerte; die Quantität war aber viel zu gering, um die Identität festzustellen. In irgendwie nennenswerthen Mengen entsteht die Milchsäure also nur in zuckerhaltigen Nährlösungen, wie ja auch zu erwarten war.

Während man seit Langem weiss, dass inactive Milchsäure (Gährungsmilchsäure) bei durch Bacterien verursachten Gährungen sich häufig bildet, ist das Auftreten von activer Milchsäure bei diesen Processen erst seit verhältnissmässig kurzer Zeit bekannt. Hilger[3]) war wohl der erste, welcher bei der Gährung des Inosit mit faulem Käse Paramilchsäure (Fleischmilchsäure, Rechtsmilchsäure) fand, Nencki und Sieber[4]) wiesen sie bei der

1) Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. XXIV, S. 498.
2) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. IV, S. 346.
3) Ann. Chem. Pharm., Bd. 160, S. 336.
4) Mh. f. Chem., Bd. X. S 532.

Vergährung von traubenzuckerhaltiger Bouillon durch den Microc. acid. paralact. nach. Seitdem sind besonders durch Nencki und seine Mitarbeiter eine ganze Reihe anderer Mikroorganismen bekannt geworden, welche ebenfalls den Zucker unter Bildung von Rechtsmilchsäure zerlegen. Es sind dies Bac. diphther.[1]), Bact. lact. aërog.[2]), Bac. coli comm.[2]), Bac. ovale ilei[3]), Bac. grac. ilei[3]), Streptoc. mastitid. sporad.[4]), Streptoc. scarlat.[5]), Strept. erysip.[5]), Bac. Guillebeau α[4]). Die bis dahin überhaupt unbekannte Linksmilchsäure wurde zuerst von Schardinger[6]) als Product der Gährthätigkeit eines aus Wasser gezüchteten Kurzstäbchens in zuckerhaltigen Lösungen aufgefunden; ausserdem wurde sie bisher nur noch von Blachstein[7]) in Zucker-Peptonculturen des Typhusbacillus nachgewiesen.

Der Gruppe der Rechtsmilchsäure bildenden Bacterien schliessen sich also nach meinen Untersuchungen der Vibrio Deneke, der Gruppe der Linksmilchsäure bildenden Bacterien der Vibrio Koch, der Vibrio Finkler-Prior und der Vibrio Metschnikoff an.

Ich bin zur Zeit damit beschäftigt, die Einwirkung der anderen bekannten Vibrionen auf zuckerhaltige Nährlösungen zu studiren. Ausserdem bemerke ich, dass im hiesigen Institute Untersuchungen über die zeitlichen Verhältnisse der Milchsäurebildung, sowie über die Umwandlung, welche andere Zuckerarten durch die verschiedenen Vibrionen erleiden, im Gange sind.

1) Dzierzgowski et de Rekowski, Arch. de scienc. biolog., St.-Pétersbourg, T. I, p. 167.

2) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXVIII, S. 311.

3) Dzierzgowski, Ueber die Stoffwechselproducte der strept. mast. spor. Bern 1891. Citirt nach Blachstein, Arch. de scienc. biolog., T. I, p. 205.

4) Nencki, Arch. de scienc. biolog., St.-Pétersbourg, T. I, p. 25.

5) Sieber-Schoumoff, ibid., T. I, p. 265.

6) Mh. f. Chem., Bd. XI, S. 545.

7) Arch de scienc. biolog., St.-Pétersbourg, T. I, p. 199.

Beiträge zur Biologie der Vibrionen.

Von

Dr. Kuprianow.

2. Mittheilung.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Im Anschluss an meine vorstehende Arbeit gleichen Titels, theile ich im Folgenden kurz die Resultate, welche die Untersuchung einiger weiterer Vibrionen, Vibrio Berolinensis,[1]) Vibrio Weibel[2]), Vibrio Bonhoff a und b,[3]) ergeben haben, mit. Die Zusammensetzung der Nährlösung, sowie die Einzelheiten des Verfahrens waren dieselben, wie sie in der ersten Mittheilung beschrieben sind, nur in einigen unwesentlichen Punkten wich ich ab. Da ein Vorversuch gezeigt hatte, dass die in Rede stehenden Mikroorganismen bei schwach alkalischer Reaction besser sich entwickelten, so wurden nicht 90 ccm Normalsodalösung, sondern nur 30 ccm zugefügt. Ferner ersetzte ich die Gummistopfen der Versuchskolben nach geschehener Impfung durch sterilisirte Wattebäusche, nachdem ein Controlversuch ergeben hatte, dass bei Benutzung von Kautschukstopfen das Wachsthum und dementsprechend auch die Zersetzung des

1) Hygien. Rundschau, Bd. III, S. 717.

2) Centralbl. f. Bact. u. Parasitk., Bd. XIII, S. 117.

3) Diese beiden Vibrionen wurden von Stabsarzt Bonhoff aus Stolper Wasser gezüchtet. Wir bezeichnen den die Gelatine verflüssigenden mit b, den nicht verflüssigenden mit a. Im Uebrigen verweise ich auf die Veröffentlichung von Herrn Bonhoff.

Zuckers und die Bildung der Milchsäure geringer war, offenbar in Folge von gehindertem Sauerstoffzutritt.

Vibrio Berolinensis. Wachsthum sehr gut, Häutchenbildung an der Oberfläche; gegen Ende des Versuchs sah man Gasbläschen in der Flüssigkeit aufsteigen. Die Titration ergab 3,2% Glucose, es waren also 1,8% oder 54 g zersetzt. Zur Neutralisation der flüchtigen Säuren waren nur 1—2 ccm einer 1/10 Normalnatronlauge erforderlich. Jodoformbildende Substanz wurde nur in Spuren, Bernsteinsäure nicht gefunden. Die Quantität des Zinksalzes betrug 8,5 g[1]). Krystallform wie bei Vibr. aquat.

0,776 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,6395 g. Der Wasserverlust betrug also 17,59%.

0,719 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,587 g. Der Wassergehalt betrug also 18,36%.

0,776 g lufttrockenes Salz hinterliessen beim Glühen 0,2095 ZnO = 27,00% ZnO.

0,719 g lufttrockenes Salz hinterliessen beim Glühen 0,1995 ZnO = 27,75% ZnO.

Bei der Polarisation erwies sich die Lösung des Salzes als optisch inactiv.

Vibrio Bonhoff b. Wachsthum sehr gut, gegen Ende des Versuchs sah man ziemlich lebhafte Gasentwicklung. Die Titration ergab 2,85% Glucose, es waren also 2,15% oder 64,5 g zersetzt.

Von flüchtigen Säuren und jodoformgebender Substanz nur Spuren, Bernsteinsäure nicht gefunden. Die Quantität des Zinksalzes betrug 11,044 g.[2])

Krystallform wie bei Vibrio aquatilis.

0,718 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,5905 g. Der Wasserverlust betrug also 17,76 g.

0,605 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,4955 g. Der Wasserverlust betrug also 18,10 g.

0,718 g lufttrockenes Salz hinterliessen beim Glühen 0,197 g ZnO = 27,44% ZnO.

0,605 g lufttrockenes Salz hinterliessen beim Glühen 0,166 g ZnO = 27,44% ZnO.

Bei der Polarisation erwies sich die Lösung des Salzes als optisch inactiv.

Vibrio Bonhoff a. Wachsthum gut. Es waren zwei Versuche angesetzt. Die Titration ergab als Mittelzahl aus beiden Versuchen 4,18% Glucose, es waren also 0,82% oder 24,6 g zersetzt. Von flüchtigen Säuren und jodoformgebender Substanz nur Spuren, Bernsteinsäure nicht gefunden. Die

1) Bei einem Controlversuch in mit Kautschukstopfen verschlossenem Kolben ergab die Titration 3,57% Glucose; es waren also nur 1,43% oder 42,9 g zersetzt; die Quantität des Zinksalzes betrug 6,13 g.

2) Bei einem Controlversuch in mit Kautschukstopfen versehenem Kolben ergab die Titration 3,14% Glucose; es waren also nur 1,86% oder 55,8 g zersetzt; die Quantität des Zinksalzes betrug 7,074 g.

Quantität des Zinksalzes betrug im Mittel 2,152 g. Krystallform wie bei Vibrio Koch.

0,729 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,633 g. Der Wasserverlust betrug also 13,17%.

0,5465 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,4755 g. Der Wassergehalt betrug also 12,99%.

0,729 g lufttrockenes Salz hinterliessen beim Glühen 0,215 g ZnO = 29,49% ZnO.

0,5465 g lufttrockenes Salz hinterliessen beim Glühen 0,1605 g ZnO = 29,37% ZnO.

Die abgelesene Drehung betrug —44', die Quantität des gelösten Salzes 0,611 g. Also $(\alpha)D = -7{,}80$.

Vibrio Weibel. Wachsthum gut. Es waren zwei Versuchskolben angesetzt. Die Titration ergab als Mittelzahl aus beiden Versuchen 3,995% Glucose, es waren also 1,005% oder 30,15 g zersetzt.

Von flüchtigen Säuren und jodoformgebender Substanz nur Spuren, Bernsteinsäure nicht gefunden. Die Quantität des Zinksalzes betrug im Mittel 4,316 g. Krystallform wie bei Vibrio Koch.

0,512 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,445 g. Der Wasserverlust betrug also 13,09%.

0,4185 g lufttrockenes Salz lieferten bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,364 g. Der Wasserverlust betrug also 13,02%.

0,512 g lufttrockenes Salz hinterliessen beim Glühen 0,15 g ZnO = 29,30% ZnO.

0,4185 g lufttrockenes Salz hinterliessen beim Glühen 0,123 g ZnO = 29,39% ZnO.

Die abgelesene Drehung betrug + 51', die Menge des gelösten Salzes 0,708 g. Also $(\alpha)D = +7{,}8$.

Die folgende Tabelle gibt eine Zusammenstellung der erhaltenen Werthe.

Vibrio	Zersetzte Zuckermenge in g[1])	Menge des Zinksalzes in g[1])	Krystallwasser in % (Mittelzahlen)	Zinkoxyd in % (Mittelzahlen)	Specifische Drehung d. Zinksalzes (α)D	Menge der freien Milchsäure in g
Berolinensis .	54,0 (42,9)	8,5 (6,13)	17,975	27,375	± 0	5,15
Bonhoff b . .	64,5 (55,8)	11,044 (7,074)	17,93	27,44	± 0	6,70
Bonhoff a . .	24,6	2,152	13,08	29,43	— 7,80	1,39
Weibel . . .	30,15	4,316	13,055	29,345	+ 7,8	2,78

1) Die in Klammern stehenden Zahlen bedeuten die Werthe, welche in den Versuchen mit Kautschukstopfenverschluss erhalten waren.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, dass auch diese vier Vibrionen Milchsäure bilden und zwar der Vibrio Berolinensis und der Vibrio Bonhoff b die inactive, der Vibrio Bonhoff a die rechtsdrehende und der Vibrio Weibel die linksdrehende Modifikation. Die Versuche werden fortgesetzt.

Vergleichende Studien an Bact. coli commune verschiedener Provenienz.

Von

Dr. Fremlin.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität zu Berlin.)

Die von Escherich[1]) im Jahre 1885 in den unteren Abschnitten des Säuglingsdarms constant aufgefundene und als »Bacterium coli commune« bezeichnete Bacterienart, die später überhaupt als constanter Bewohner des menschlichen Dickdarms erkannt und auch vielfach bei Thieren nachgewiesen wurde, beanspruchte nach ihrer Entdeckung ein weitergehendes Interesse zunächst nicht. Obgleich es Escherich bereits gelang, pathogene Eigenschaften an diesem Mikroorganismus nachzuweisen [der Autor sah Meerschweinchen und Kaninchen nach intravenöser Einverleibung der Culturen in wenigen Stunden bis 3 Tagen unter Temperaturerhöhung und Auftreten heftiger Diarrhöen zu Grunde gehen[2])], so wurde demselben eine ausgedehntere pathogene Rolle, speciell eine Rolle in der menschlichen Pathologie, nicht zugeschrieben. Erst in den letzten Jahren haben eine grössere Reihe von Beobachtungen gezeigt, dass das Bacterium coli doch nicht ein so harmloser Gast in unserem Darme ist, wie man ursprünglich glaubte. Die erste derartige Beobachtung wurde von Laruelle[3]) gemacht. Der Autor beobachtete zwei Fälle

1) Fortschr. der Medic., 1885, Nr. 16, 17.

2) a. a. O., S. 521.

3) La Cellule, t. V, 1889. (Nach Baumgarten, Bact. Jahresber., 1889, S. 335 citirt).

von Perforationsperitonitis beim Menschen, bei denen er im Exsudate das Bacterium coli fand. Durch Einverleibung der Culturen in den Thierkörper gelang es dem Autor auch künstlich Peritonitis zu erzeugen. Derartige Beobachtungen sind in der Folge in grösserer Anzahl gemacht worden; und es kann heute kaum noch einem Zweifel unterliegen, dass das Bacterium coli gelegentlich als pathogener, speciell als entzündungserregender Organismus aufzutreten vermag.

Speciell will ich hier auf die Erfahrungen von Alex. Fränkel[1]) hinweisen. Der Autor fand bei 31 darauf hin untersuchten Fällen von Peritonitis (meist Perforationsperitonitiden) beim Menschen in 9 Fällen das Bacterium coli in Reincultur im Exsudat. Mit den von diesen Krankheitsfällen erhaltenen Culturen gelang es bei intraperitonealer Einverleibung in den Kaninchenkörper typische Peritonitis zu erzeugen. Die aus gewöhnlichen Fäces erhaltenen Culturen des Bacterium coli haben eine derartige pathogene Wirkung nicht Das Bacterium coli kann also in einer virulenten und in einer nicht virulenten Form auftreten. *Alex.* Fränkel fand weiter, dass man sich experimentell leicht ein virulentes Bacterium coli herstellen kann, indem man nämlich (der Autor experimentirte am Hunde) dem Thiere nach Laparotomie den Darm unterbindet. In dem sich ausbildenden peritonitischen Exsudate findet man ein Bacterium coli, welches die oben angegebenen virulenten Eigenschaften besitzt.

Ausser wegen seiner pathogenen Eigenschaften interessirt das Bacterium coli noch in einer zweiten Hinsicht. Es hat in seinen Culturen bekanntlich eine weitgehende Aehnlichkeit mit dem Eberth'schen Typhusbacillus; und es hat in den letzten Jahren selbst nicht an Stimmen gefehlt, die die beiden Arten mit einander confundiren wollen. Neuere Untersuchungen auf diesem Gebiete haben jedoch ganz constante Unterschiede dieser beiden Dinge von einander ergeben, so dass ein Zweifel darüber, dass wir es hier wirklich mit zwei differenten Arten zu thun haben, heute nicht mehr bestehen kann. Die Unterschiede beziehen sich im Wesentlichen auf drei verschiedene Punkte: 1. auf die Anzahl der

1) Wiener klin. Wochenschr., 1891, N. 13—15.

Geisselfäden, welche an der einzelnen Bacterienzelle angebracht sind; 2. auf das Gärungsvermögen in Traubenzuckerlösungen und das Verhalten gegen Milch; 3. auf die Fähigkeit der Indolbildung in peptonhaltigen Nährböden.

Was den ersten Punkt, die Geisselfäden betreffend, angeht, so hat Luksch[1]) darauf aufmerksam gemacht, dass das Bacterium coli gewöhnlich einen einzigen Geisselfaden, der an dem einen Ende der Zelle angebracht ist, seltener deren mehrere, höchstens 3—4, besitzt, während der Typhusbacillus bekanntlich stets eine ganze Anzahl, 9—12, aufweist. Bezüglich des zweiten Punktes, des Gährungsvermögens, hat Th. Smith[2]) angegeben — und diese Angabe hat sich in der Folge durchaus bestätigt —, dass das Bacterium coli bei seinem Wachsthum in 2proc. Traubenzuckerbouillon Gasbildung hervorruft, während bei dem Wachsthum des Typhusbacillus auf demselben Nährboden Gasbildung ausbleibt. In steriler Milch cultivirt bewirkt das Bacterium coli starke Säuerung und Gerinnung, der Typhusbacillus geringe Säuerung ohne Gerinnung[3]). Den dritten Punkt, die Verhältnisse der Indolproduction, hat Kitasato[4]) studirt. In Culturen des Bacterium coli auf peptonhaltigen Nährböden erhält man nach Zusatz von Kaliumnitrit und Schwefelsäure die Nitrosoindolreaction; in entsprechenden Culturen des Typhusbacillus bleibt diese Reaction aus.

Die in den folgenden Zeilen niedergelegten Untersuchungen stellten sich nun die Aufgabe, zu ermitteln, ob das »Bacterium coli«, welches man aus Fäces verschiedener Thierspecies mit Hilfe der Gelatineplattencultur gewinnt, in jedem Falle mit dem Bacterium coli des Menschen für identisch und als einer und derselben Art zugehörig betrachtet werden muss, oder ob Differenzen, und welche, bestehen. Selbstverständlich konnte die Lösung dieser Aufgabe nur so in Angriff genommen werden, dass man

1) Centralbl. f. Bact. Bd. XII, 1892, S. 430.

2) Centralbl. f. Bact. Bd. VII, 1890, S. 504.

3) cf. Chantemesse und Widal, Soc. de Biol., Paris 7 nov. 1891; ferner Dunbar, Zeitschr. f. Hyg., Bd. XII, 1892, S. 491.

4) Zeitschr. f. Hyg., Bd. VII, 1889.

das Verhalten der von verschiedenen Thieren und vom Menschen erhaltenen Culturen auf den verschiedensten Nährböden und unter den verschiedensten sonstigen Bedingungen mit einander verglich. Um die Arbeit nicht allzusehr auszudehnen, beschränkte ich mich bezüglich der Gewinnung des Ausgangsmaterials auf eine kleinere Reihe von Thierspecies. Der Typhusbacillus wurde mit in die vergleichenden Untersuchungen einbezogen.

Gewinnung des Ausgangsmaterials.

Mit kleinen Quantitäten Fäces von Mensch, Maus, Ratte, Meerschweinchen, Hund, Taube und Kaninchen wurden Gelatineröhrchen beschickt, worauf ich von jedem Originalröhrchen eine erste und zweite Verdünnung machte; die inficirten Röhrchen wurden zu Plattenculturen ausgegossen.

Ich will gleich hier bemerken, dass es nicht gelang, aus den Excrementen der Ratte, der Taube und des Meerschweinchens das Bacterium coli zu züchten; aus den Fäces des Menschen, des Hundes, der Maus und des Kaninchens erhielt ich Reinculturen desselben.

Die Diagnose auf Bact. coli wurde zunächst aus der Form der Plattencolonien gestellt. Colonien, welche die charakteristische häutige Ausbreitung zeigten, wurden abgeimpft, im hängenden Tropfen und gefärbten Präparat untersucht, und es wurden vor allen Dingen von diesen primären Colonien sofort wieder Platten zur weiteren Prüfung angelegt.

Die Eingangs erwähnten Platten der verschiedenen Fäces wurden nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur (19° C.) untersucht und zeigten folgendes Verhalten: Die Originalplatten erscheinen getrübt, es sind aber keine Colonien von Bact. coli zu sehen. Auch in den ersten und zweiten Verdünnungen sind mit blossem Auge keine solchen Colonien zu entdecken.

Wurden die Platten nach 48 Stunden wieder betrachtet, so boten sie folgende Erscheinungen dar:

Platten von Kaninchenkoth: Original-Platte verflüssigt. 1. Verdünnung zeigt viele kleine Colonien. Das Bacterium coli nicht erkennbar. 2. Verdünnung zeigt ebenfalls viele Colonien.

darunter einige mit dem oberflächlichen, wie mattes Glas aussehenden, für Bact. coli charakteristischen Häutchen.

Platten von Mäusekoth: Original-Platte zeigt viele kleine Colonien; Bact. coli nicht erkennbar. 1. Verdünnung: Man sieht einige Colonien von Bact. coli, welche als unregelmässige, etwa 1 qcm grosse Häutchen mit dem gewöhnlichen, an mattes Glas erinnernden Aussehen sich darbieten. 2. Verdünnung: Es finden sich zwei Häutchen von Bact. coli mit einigen anderen Colonien.

Platten von menschlichen Fäces: Original-Platte: Zahlreiche Colonien, darunter viele Häutchen von Bacter. coli, deren Grösse etwa $1/2$ qcm beträgt. 1. Verdünnung: Viele Colonien von Bact. coli, sowie auch andere Arten. 2. Verdünnung: Es finden sich hier 5 Colonien von Bact. coli, die sich, wie deutlich zu bemerken ist, über grössere Flächen ausdehnen als auf den anderen Platten; einzelne Colonien erreichen eine Ausdehnung von 2 qcm. Auch einige Colonien von anderen Arten sind vorhanden.

Platten von Hundekoth. Original-Platte: Man sieht viele charakteristische, etwa 1 qcm grosse Colonien von Bact. coli und andere Bacteriencolonien. 1. Verdünnung: Es zeigt sich eine Colonie von Bact. coli und einige andere Arten. 2. Verdünnung: Hier findet sich ebenfalls eine Colonie von Bact. coli.

Nach 72 Stunden bieten die Platten folgendes Bild:

Platten von Kaninchenkoth. Original-Platte: Verflüssigt. 1. Verdünnung: Theilweise verflüssigt. 2. Verdünnung: Sehr zahlreiche Colonien sind auf der Platte entwickelt.

Platten von Mäusekoth. Original-Platte: Viele kleine Colonien. 1. Verdünnung: Die Colonien sind nicht sichtlich vergrössert. 2. Verdünnung: Die Colonien von Bact. coli haben vielleicht etwas an Grösse zugenommen.

Platten von menschlichen Fäces. Original-Platte: Aussehen wie vorher. 1. Verdünnung: Viele Colonien. 2. Verdünnung: Hier haben die Colonien von Bact. coli an Grösse sehr zugenommen. Der Durchmesser derselben beträgt $2^1/_2$—3 cm.

Platten von Hundekoth. Original-Platte und 1. Verdünnung wie am Tage vorher. 2. Verdünnung: Die Colonie von Bact. coli zeigt eine geringe Vergrösserung.

Nachdem ich nun auf diese Weise Colonien erhalten hatte, die ich für Reinculturen hielt, legte ich von denselben Gelatine-Platten an, und zwar ebenfalls zugleich in erster und zweiter Verdünnung, um das Wachsthum des Bact. coli in Reinculturen zu beobachten.

Bei der Betrachtung der Platten fand ich überall nicht nur die mit mattem Glase vergleichbaren, unregelmässigen Häutchen, sondern auch winzige Pünktchen, die dem blossen Auge als Colonien einer anderen Art erscheinen. Auch bei schwacher Vergrösserung (Zeiss *AA*) erscheinen diese Colonien andersartig.

Während nämlich die Häutchen matt weiss aussehen und manchmal verästelte Adern und einen gezahnten, unregelmässigen Rand aufweisen, erscheinen die Pünktchen rund, als gelbe oder gelblich-braune Colonien.

Da mir infolgedessen Zweifel bezüglich der Reinheit meiner Culturen aufstiegen, verimpfte ich Theilchen der Punktcolonien auf Gelatine und goss letztere in Platten aus. Das Resultat waren wieder Häutchen und Punkte.

Um absolute Gewissheit über die Reinheit meiner Culturen zu erlangen, goss ich zwei sterile Gelatineplatten und liess sie erstarren. Eine von diesen übergoss ich mit Bouillon, welche mit Theilchen der Punktcolonien geimpft war, die andere mit Bouillon, welche von den Häutchen aus geimpft worden war.

Die Betrachtung der Platten nach 48 Stunden ergab, dass auf keiner von beiden sich die kleinen Pünktchen entwickelt hatten, sondern nur Häutchen.

Zugleich mit diesem Versuch stellte ich noch den folgenden an. Vier Gelatineröhrchen wurden geimpft, und zwar je zwei mit Häutchen und Pünktchen. Dann liess ich sie erstarren und übergoss zwei von ihnen, deren eines mit Häutchen und das andere mit Pünktchen geimpft war, mit flüssiger Gelatine.

Bei Betrachtung der Röhrchen nach 48 Stunden ergibt sich Folgendes:

Das mit Häutchen geimpfte Gelatineröhrchen, welches nicht mit Gelatine überschichtet war, zeigt in allen Theilen feine Pünktchen, an der Oberfläche waren aber kleine Häutchen.

Das mit Häutchen geimpfte Röhrchen, welches mit Gelatine überschichtet wurde, gibt genau dasselbe Resultat, indem sich ebenfalls an der Oberfläche kleine Häutchen finden.

Die mit Pünktchen geimpften Röhrchen ergeben fast das gleiche Resultat, nur dass an der Oberfläche des nachträglich mit Gelatine überschichteten Röhrchens ein Häutchen sich entwickelte, welches $^1/_3$ der Oberfläche des Röhrchens einnahm.

Gelatineplatten.

Nachdem ich mich so von der Reinheit meiner Culturen und der doppelten Entwickelungsweise des Bacterium coli überzeugt hatte, schritt ich zur Anlage von Plattenculturen der vorhandenen Arten, auch in erster und zweiter Verdünnung, und verglich mit diesen das Wachsthum der Typhusbacillen.

Die von den Culturen angelegten Gelatineplatten lieferten bei der Betrachtung am zweiten Tage folgende Bilder:

Bacterium coli vom Kaninchen.

Originalplatte erscheint dem blossen Auge von Colonien ganz getrübt. System *AA* zeigt viele kreisrunde und ovale, helle, gelbe Colonien mit sehr scharfem Rande.

Erste Verdünnung makroskopisch fast von gleichem Aussehen wie die Originalplatte; einige Colonien erscheinen als Pünktchen, andere als Häutchen.

Zweite Verdünnung zeigt zahlreiche Colonien auf der Platte; Häutchen von $^1/_2$ qcm Ausdehnung, viele punktförmige Colonien.

Mit System *AA* erhält man ein ähnliches Bild wie von der Originalplatte. Runde, helle, gelbliche Colonien mit scharfem Rande; die Häutchen sehen wie mattes Glas aus und haben einen unregelmässigen Rand.

Bacterium coli von der Maus.

Originalplatte zeigt makroskopisch eine starke Trübung durch zahlreiche Colonien. Mikroskopisch sieht man kleine, runde, helle Colonien.

Erste Verdünnung zeigt makroskopisch Pünktchen. Unter dem Mikroskop sieht man runde, nierenförmige oder grössere,

unregelmässig gestaltete Colonien. Die grösseren Colonien sind von unregelmässiger Form, scheinen von einer runden, gefärbten Colonie auszugehen und umgeben dieselbe theilweise, zum Theil dehnen sie sich nach einer Seite aus. Sie stellen sich als kleine, weissliche Häutchen von Nierenform dar. Die kleinen runden Colonien zeigen eine grünlich-braune Färbung.

Zweite Verdünnung. Auf dieser Platte sieht man mit blossem Auge Pünktchen oder kleine Häutchen. Mikroskopisch finden sich grössere Colonien, welche nicht kreisrund sind und die obige Färbung zeigen. Die Häutchen erweisen sich als weisse Colonien mit unregelmässigem Rande.

Bacterium coli vom Menschen.

Originalplatte makroskopisch getrübt. Unter dem Mikroskop kleine, helle, runde Colonien.

Erste Verdünnung. Aehnlich der vorigen Platte; getrübt. Mikroskopisch: farblose, runde Colonien.

Zweite Verdünnung. Einige kleine Colonien auf der Platte; nur 2 Häutchen sichtbar. Unter dem Mikroskop sieht man Häutchen, welche ein gelbes Centrum zeigen und nach dem Rande zu abblassen bis zu dem gewöhnlichen, an mattes Glas erinnernden Aussehen.

Bacterium coli vom Hund.

Originalplatte makroskopisch getrübt. Mikroskopisch: kleine, helle, runde Colonien mit scharfem Rand.

Erste Verdünnung. Die Colonien erscheinen dem blossen Auge als Punkte und kleine Häutchen. Mikroskopisch sieht man grössere und kleinere runde Colonien; die kleineren sind immer glashell, die grösseren entweder glashell oder blassgrünlich bis gelblich und nicht sehr klar. Die Häutchen sind regelmässiger als gewöhnlich, der Rand zeigt keine Einkerbungen.

Zweite Verdünnung. Mit blossem Auge sieht man die Colonien auf der Platte als Punkte und Häutchen. Die letzteren sind sehr dünn und unregelmässig. Das Centrum der Colonien ist immer dicker als der Rand, welcher fast durchsichtig ist. Das Mikroskop zeigt viele ovale und runde Colonien von gewöhn-

lichem Aussehen. Die Häutchen bieten das oben erwähnte Bild. In einiger Entfernung vom Rande zeigen sie schöne Aderung; der Rand selbst ist gezahnt.

Typhusbacillus.

Originalplatte: Makroskopische Trübung. Das Mikroskop zeigt kreisrunde, helle, gelbliche Colonien.

Erste Verdünnung. Man sieht einige Pünktchen und Häutchen mit blossem Auge. Unter dem Mikroskop erblickt man helle, gelbliche, kreisrunde Colonien.

Zweite Verdünnung. Man sieht nur 4 Colonien auf der Platte, und zwar sind dieselben im Vergleich zu den Häutchen von Bacterium coli auffallend klein. Ihr Durchmesser beträgt 3 mm. Unter dem Mikroskop zeigen sich dünne, fast durchsichtige, unregelmässig gestaltete Colonien, wie mattes Milchglas aussehend, mit schöner, blattähnlicher Aderung.

Alle Häutchen zeigen eine glänzende Oberfläche und irisiren bläulich bei seitlichem Licht. Die bläuliche Färbung zeigt sich sogar auf den Originalplatten. Die Platten verbreiten einen charakteristischen, ammoniakalischen, unangenehmen Geruch.

Gelatinestichculturen.

Das Bacterium coli zeigt in Stichculturen ein rasches Wachsthum. Schon nach wenigen Stunden bemerkt man bei einer Temperatur von 19° C. eine schwache Andeutung seiner Entwickelung auf der ganzen Länge des Stichkanals. Nach 24stündiger Entwickelungsdauer bei 19° C. bieten sich folgende Erscheinungen: Das Wachsthum zeigt in allen Culturen eine grosse Aehnlichkeit. Es bildet sich ein weisser Strich bis zum Ende des Impfstiches. Dieser weisse Strich ist dünn, fast durchsichtig und besteht offenbar aus winzigen, runden Colonien. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen, wie auf den Platten. An der Oberfläche der Gelatine bemerkt man, dass bei Culturen des vom Hunde stammenden Bacterium coli das Häutchen fast durchsichtig ist und eine grössere Flächenausdehnung zeigt, im Gegensatz zu Culturen von Bacterium coli

des Kaninchens, welche ein Häutchen entwickeln, welches viel dicker ist und keine Neigung zur Flächenausbreitung zeigt.

Nach 48 Stunden ist der Stich weniger durchsichtig und das Häutchen an der Oberfläche hat sich etwas mehr ausgedehnt.

Eine Typhusstichcultur ist nach 48 Stunden nicht so weit entwickelt und zeigt im Vergleich zum Bacterium coli ein spärliches Wachsthum.

Von dieser Zeit an sind wenige Veränderungen zu bemerken, nur sind die Häutchen an der Oberfläche bestrebt, sich über die ganze Gelatine zu verbreiten.

Oberflächen-Strichculturen auf Agar.

Auch bei Agarculturen ist die Aehnlichkeit gross, nur entwickelt sich der Typhusbacillus viel weniger rasch. In den Culturen sieht man wenig Unterschied.

Nach 24 stündigem Wachsthum bei 19° C. präsentirt sich die Cultur als mässig breiter, glänzender, undurchsichtiger Strich. Nach 48 Stunden, bis zu welchem Zeitpunkt die Entwickelung der Colonien in die Breite zunimmt, sind wenig Veränderungen zu constatiren. Das Wachsthum auf Agar im Brutschrank ist ein rasches. Schon nach 4 Stunden sieht man einen deutlichen Strich, und in 24 Stunden hat die Cultur eine Ausdehnung erreicht, die sie mit sehr geringen Veränderungen beibehält.

Bouilloncultur.

In Bouillon sind Wachsthumsunterschiede bei den verschiedenen Culturen nicht zu constatiren.

Nach 24 Stunden zeigt die Bouillon bei einer Temperatur von 19° eine leichte Trübung, kein Häutchen auf der Oberfläche, wenig oder gar kein Sediment am Boden.

Nach 48 Stunden ist wenig Veränderung zu bemerken ausser einer Zunahme der Trübung in der Bouillon.

Bei einer Temperatur von 37° C. ist die Bouillon nach 24 Stunden bedeutend stärker getrübt als bei Zimmertemperatur; kein Häutchen an der Oberfläche, ein geringes, weissliches Sediment.

Nach 48 Stunden ist der Befund ziemlich derselbe wie oben, aber die Menge des Sediments hat etwas zugenommen.

Nach einigen Tagen entwickelt sich bei 19° C. an der Oberfläche der Bouillon ein schwaches Häutchen. Beim Bacterium coli von der Maus bemerkte ich dasselbe am 10. Tage.

Bei der Untersuchung von 7 Tage alter Bouillon, die in einer Temperatur von 37° C. stand, zeigten die von der Maus und dem Kaninchen stammenden Culturen dasselbe Häutchen auf der Oberfläche.

Ein gutes Nährmaterial zur Züchtung des Bacterium coli ist Pankreas-Bouillon. Man sieht darin einen viel grösseren Bodensatz als in gewöhnlicher Bouillon. Schon nach 48 Stunden sieht man bei 37° C. das Häutchen auf der Oberfläche.

Kartoffelcultur.

Auf Kartoffeln fand sich im Wachsthum der Colonien, sowohl in Bezug auf die äussere Erscheinung, als auf die Ueppigkeit ein grosser Unterschied je nach der benützten Kartoffelsorte, und je nachdem man die Kartoffeln künstlich leicht alkalisch oder mehr deutlich sauer machte. Bei den Kartoffelversuchen wurde folgendermassen verfahren:

1. Einige Kartoffeln wurden benutzt ohne irgend einen Zusatz.
2. Die Kartoffeln wurden vor dem Sterilisiren 1/4 Stunde in 1% Essigsäure(lösung) gelegt.
3. Vor dem Sterilisiren wurden die Kartoffeln 1/4 Stunde in 1% Lösung von Na_2CO_3 gelegt.
4. Vor dem Sterilisiren wurden die Kartoffeln 1/4 Stunde in 1% Salzsäurelösung gelegt.
5. Einige Kartoffeln wurden vor dem Sterilisiren mit ein wenig 1% Essigsäure übergossen.
6. Die Kartoffeln wurden vor dem Sterilisiren mit 1% Sodalösung übergossen.
7. Die Kartoffeln wurden mit reinem Liq. Ammonii caustici übergossen.

Auf gewöhnlichen, unveränderten Kartoffeln zeigt sich das Wachsthum der Colonien nach 24 Stunden als ein schmaler

Strich. Beim Bact. coli bemerkt man in der Regel einen gelblich-orangefarbenen glänzenden Strich. Beim Typhusbacillus erscheint die Oberfläche der Kartoffel glänzend, und oft ist es fast unmöglich, die Colonien zu sehen.

Die erhaltenen Resultate habe ich im Folgenden tabellarisch geordnet.

Unveränderte Kartoffel.

Unveränderte Kartoffeln habe ich bei sechs verschiedenen Untersuchungen benutzt.

Bact. coli von Mensch: Die Farbe schwankt von hellgelb bis orange-braun.
„ „ „ Hund: Farbe wie die natürliche Farbe der Kartoffel, einmal orange-braun.
„ „ „ Maus: Hellgelb gefärbte Colonien.
„ „ „ Kaninchen: Farbe wechselnd von hellgelb bis orange-braun.
Typhusbacillus: Gelegentlich gelbe Colonien, aber gewöhnlich kein sichtbares Wachsthum.

Kartoffeln, die 1/4 Stunde in Essigsäure gelegen haben.

Hier war die Entwickelung gewöhnlich unsichtbar und niemals sehr üppig. In der Regel war es ganz unmöglich, die mit Typhusbacillen geimpfte Kartoffel herauszuerkennen. Diesen Versuch habe ich 3 Mal gemacht, immer mit demselben Ergebnis.

Nach 48 Stunden bei 37° C.

Bact. coli von Mensch: Wachsthum nicht sichtbar. Der von der Nadel herrührende Ritz zu erkennen.
„ „ „ Hund: Keine Wachsthumserscheinungen.
„ „ „ Maus: Oberfläche glänzend wie bei Typhus.
„ „ „ Kaninchen: Glänzende Oberfläche.
Typhusbacillen: Wo dieselben wachsen, sieht man glänzende Furchen. Nimmt man davon Material zur Untersuchung im hängenden Tropfen, so sieht man lebende Bacillen selbst nach 7 Tagen. Doch ist das Wachsthum nicht sehr üppig.

Kartoffeln, die 1/4 Stunde in 1% Sodalösung gelegen haben.

Dieser Versuch wurde einmal gemacht.

Bact. coli von Mensch: Glänzende Striche, wie bei Typhus.
„ „ „ Hund: Gelbbraune Striche.
„ „ „ Maus: Gut entwickelte gelbe Striche.
Typhusbacillen: 2 gut entwickelte hellgelbe Striche, die Oberfläche der Kartoffel glänzend.

Kartoffeln, die in 1% Salzsäure gelegen haben.

Dieser Versuch wurde einmal gemacht. In keinem Fall war auf der Kartoffel das Wachsthum sichtbar.

Nach 48 Stunden bei 37° C. mikroskopisch:

Bact. coli von Mensch: Bacillen nachweisbar, aber in geringer Zahl. Geringe Beweglichkeit.
„ „ „ Maus: Keine Bacillen zu finden.
„ „ „ Kaninchen: Sehr wenige Bacillen zu finden. Wenig oder keine Beweglichkeit.
„ „ „ Hund: Sehr wenige Bacillen. Wenig oder keine Beweglichkeit.
Typhusbacillen: Einzelne, wenig bewegliche Bacillen nachweisbar.

Kartoffeln, die vor dem Sterilisiren mit ein wenig Essigsäure übergossen waren.

Dies wurde nur einmal gethan.

Bact. coli von Mensch: Wachsthum, wie bei Typhus. Nur die Impflinien zu erkennen. Wachsthum nicht sichtbar.
„ „ „ Hund: Hell-orange-braune Colonien.
„ „ „ Maus: Gut entwickelte, gelbbraune Streifen.
„ „ „ Kaninchen: Orange-braune Colonien.
Typhusbacillen: Kein sichtbares Wachsthum.

Kartoffeln, die vor dem Sterilisiren mit 1% Sodalösung übergossen waren.

Einmal untersucht.

Bact. coli von Mensch: Gut entwickelte braungelbe Streifen.
„ „ „ Hund: Hell crême-gelber Strich.
„ „ „ Maus: Gut entwickelter, bräunlich-gelber Strich.
„ „ „ Kaninchen: Feiner crêmefarbener, glänzender Strich.
Typhusbacillen: Strich sowie glänzende Oberfläche sichtbar.

Kartoffeln, die mit reinem Liqu. Ammon. caustic. übergossen waren.

Zweimal untersucht.

Bact. coli von Mensch: Hellgelbe und kartoffelfarbene Striche.
„ „ „ Hund: Hellgelb gefärbte, auf trockener Kartoffel orange-braune, schlecht entwickelte Streifen.
„ „ „ Maus: Hellgelbe Streifen.
„ „ „ Kaninchen: Schmutzig-gelber Strich.
Typhusbacillen: Glänzendes Oberflächenwachsthum.

Blutserumcultur.

Auf erstarrtem Blutserum ist das Wachsthum des Bact. coli nicht charakteristisch. Ich habe diese Culturmethode zweimal geprüft. Nach 24stündigem Wachsthum bei Zimmertemperatur ist kaum etwas sichtbar; nur wenn man das Glas gegen das Licht

hält, sieht man einen breiten, fast durchsichtigen Strich. Bei 37° C. ist der Befund nach 24 Stunden fast der gleiche; die Entwickelung ist eine etwas bessere.

Bei Zimmertemperatur bemerkt man nach drei Tagen, dass einzelne Colonien sich ganz deutlich feucht glänzend abheben. Bei Vergleichung der verschiedenen Culturen findet man sehr wenig Unterschied.

Gährungserregung.

Zur Prüfung der fermentativen Eigenschaften des Bact. coli und des Typhusbacillus wurden Zucker-Bouillon, Zucker-Bouillon mit 3‰ Soda, Zucker-Gelatine und Zucker-Agar benützt. Alle Medien enthielten 2% Traubenzucker.

Die Zuckerbouillon wurde in Gährungskölbchen gefüllt, von denen jedes 9—10 ccm Flüssigkeit fasste.

Die erste Probe wurde bei 22° C. angestellt. Nach 24 Stunden hatte sich in den Kölbchen noch kein Gas entwickelt.

Nach 48 Stunden hatte Bact. coli vom Hunde 0,6 ccm Gas entwickelt, Bact. coli von der Maus 0,1 ccm. Nach 96 Stunden:

Bact. coli von Mensch:	0,8 ccm	Gas entwickelt.
„ „ „ Hund:	0,6 ccm	„ „
„ „ „ Maus:	0,6 ccm	„ „
„ „ „ Kaninchen:	0,6 ccm	„ „
Typhusbacillus:	kein	„ „

Diese Kölbchen wurden jetzt in Temperatur von 37° C. gebracht. Nach 24 Stunden war das Resultat:

Bact. coli von Mensch:	1,5 ccm	Gas entwickelt.
„ „ „ Hund:	2,0 ccm	„ „
„ „ „ Maus:	2,0 ccm	„ „
„ „ „ Kaninchen:	1,5 ccm	„ „
Typhusbacillus:	0 ccm	„ „

Nach dieser Zeit bis zu 48 Stunden nahm die Gasentwickelung nur sehr wenig zu. Alle Bouillonculturen waren getrübt und hatten einen weisslichen Bodensatz.

Setzte man die Kölbchen von vornherein einer Temperatur von 37° C. aus, so ergab nach 24 Stunden:

Bact. coli von Mensch:	3,5 ccm	Gas
„ „ „ Hund:	2,25 ccm	„
„ „ „ Maus:	3,5 ccm	„
„ „ „ Kaninchen:	2,0 ccm	„
Typhusbacillus:	0 ccm	„

Nach 48 Stunden:

Bact. coli von Mensch:	4,0 ccm	Gas
„ „ „ Hund:	3,5 ccm	„
„ „ „ Maus:	4,25 ccm	„
„ „ „ Kaninchen:	3,25 ccm	„
Typhusbacillus:	0 ccm	„

Die Bouillon in allen Röhrchen trübe. Nach 72 Stunden:

Bact. coli von Mensch:	4,6 ccm	Gas
„ „ „ Hund:	3,75 ccm	„
„ „ „ Maus:	4,5 ccm	„
„ „ „ Kaninchen:	3,5 ccm	„
Typhusbacillus:	0 ccm	„

In den Bouillonkölbchen von Bact. coli findet sich ein Bodensatz, bei dem mit Typhusbacillen nicht.

Gährungskölbchen mit 9—10 ccm Zuckerbouillon und 8‰ Na_2CO_3.

Dieselben wurden sofort in eine Temperatur von 37° gebracht, und in 5 Stunden begannen einzelne schon Gas zu entwickeln. Nach 20 Stunden:

Bact. coli von Mensch:	5,75 ccm	Gas
„ „ „ Hund:	6,25 ccm	„
„ „ „ Maus:	6,0 ccm	„
„ „ „ Kaninchen:	6,5 ccm	„
Typhusbacillen:	0 ccm	„

Das Gas wurde dann analysirt und es zeigte sich, dass es aus $^2/_3$ CO_2 und $^1/_3$ H bestand.

Zuckergelatine.

Stichculturen wurden von jeder Gattung angelegt; am nächsten Tage zeigte sich aber, dass die Gelatine (wegen zu hoher Zimmertemperatur) verflüssigt war. Deshalb wurden die Röhrchen in den Eisschrank (10° C.) gestellt, und am nächsten Tage ergab die Betrachtung, dass sich in der Gelatine viel Gas entwickelt hatte. Am folgenden Tage nahm die Gasentwickelung noch zu. Und zwar hatten alle Röhrchen mit Ausnahme der Typhusbacillen Gas entwickelt.

Zucker-Agar.

Sämmtliche angelegten Stichculturen gedeihen gut. Alle Röhrchen, ausser den mit Typhusbacillen geimpften, entwickeln Gas.

Milchcultur.

Kölbchen mit je 50 ccm frischer, gut durchgeschüttelter Milch wurden sterilisirt, dann geimpft und in Temperatur von 37° C. gebracht. Zum Vergleich wurden auch Kölbchen mit Typhusbacillen, mit sterilisirter, nicht geimpfter Milch und mit unsterilisirter Milch in Temperatur von 37° gebracht. Nach 3 Tagen waren die meisten mit Bact. coli geimpften Kölbchen geronnen. Nach 7 Tagen wurden die Kölbchen mit Phenolphthaleïn und Normal-Natronlauge geprüft. Die folgenden Zahlen geben die Menge Natronlauge an, die nöthig war, um die gebildete Säure zu neutralisiren. Der Versuch wurde 2 mal gemacht.

Verbrauch an Normal-Natronlauge.

	1. Versuch	2. Versuch
Bact. coli von Mensch:	8,9 ccm	4,1 ccm
„ „ „ Hund:	4,1 ccm	4,3 ccm
„ „ „ Maus:	4,9 ccm	4,2 ccm
„ „ „ Kaninchen:	3,1 ccm	2,8 ccm
Typhusbacillen:	verunreinigt	verunreinigt
Sterile Milch:	1,5 ccm	2,1 ccm
Unsterilisirte Milch:	10,5 ccm	9,6 ccm.

Resistenz gegen höhere Temperaturen.

Um diese zu prüfen, wurde von jeder Sorte des Bact. coli und von Typhusbacillen eine Bouilloncultur angelegt und diese auf 24 Stunden in Temperatur von 37° C. gebracht. Von den 24 Stunden alten Bouillonculturen wurde je eine Oese auf Gelatine verimpft und diese zu Platten ausgegossen. Die Bouillonculturen wurden dann 10 Minuten lang einer Temperatur von 59° bis 61° C. ausgesetzt. Dann wurde die Bouillon aus dem Wasser genommen, so schnell als möglich abgekühlt und dann von jeder Cultur eine Oese auf ein Gelatineröhrchen verimpft; davon wurden Platten gegossen. Nach 48 Stunden ergab sich folgendes Resultat:

Die vor der Erhitzung geimpften Platten waren von Colonien getrübt.

	Vor der Erhitzung	Nach der Erhitzung.
Bact. coli von Mensch:	. . . .	keine sichtbar
„ „ „ Hund:	geschätzt auf . . .	4000 Colonien
„ „ „ Maus:	7—10,000,000 . . .	4000 „
„ „ „ Kaninchen:	Colonien . .	ca. 4000 „
Typhusbacillen:	. . . .	1 Colonie.

Der Versuch wurde ein zweites Mal gemacht.

	Vor der Erhitzung	Nach der Erhitzung
Bact. coli von Mensch:	800,000 Col.	6 Col.
„ „ „ Hund:	1,140,000 „	4000 (?) „
„ „ „ Maus:	1,892,000 „	540 „
„ „ „ Kaninchen:	7,858,200 „	2300 „
Typhusbacillen:	3,085,200 „	keine gefunden.

Thierversuche.

1. Impfung von Thieren:

Zur Prüfung der Virulenz des Bact. coli wurden Kaninchen mit einer 24 Stunden alten, bei 37° C. gewachsenen Bouilloncultur geimpft.

Zunächst wurde 1 ccm Cultur injicirt, aber da sich keine Wirkung zeigte, wurde den Thieren nach 13 Tagen wieder, diesmal 4 bis 5 ccm Bouilloncultur eingespritzt. Die Temperatur wurde an den darauf folgenden Tagen gemessen:

	Temperatur			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
Bact. coli von Mensch:	40,0	39,0	39,0	38,9
„ „ „ Hund:	39,3	39,5	38,0	39,0
„ „ „ Maus:	39,3	38,3	39,8	39,8
„ „ „ Kaninchen:	39,4	39,4	38,9	39,0
Typhusbacillen:	39,9	38,5	39,2	38,9

Ausgeprägte Krankheitssymptome zeigten die Thiere niemals.

2. Da die Thiere für das Gift nicht empfänglich zu sein schienen, wurden folgende Operationen an zwei Kaninchen vorgenommen, um festzustellen, ob sich vielleicht unter besonderen Verhältnissen ein virulentes Bacterium coli entwickeln könnte:

K a n i n c h e n I. Nach ausgeführter Laparotomie wurde der Dickdarm an zwei Stellen unterbunden, und die Wunde zugenäht.

Kaninchen II. Ein Pressschwamm wurde ins Rectum eingeführt.

Die Operationen wurden ausgeführt, um zu sehen, ob sich in Fällen von acutem Darmverschluss ein giftiges Bacterium coli commune entwickele, wie es von A. Fränkel bei Hunden gefunden wurde.

Nach 5 Tagen starb das Kaninchen, welches den Pressschwamm im Rectum hatte. Die Section ergab Peritonitis mit reichlichem Exsudat in der Bauchhöhle. Es fanden sich kurze Stäbchen im peritonitischen Exsudat, in der Leber und Milz. Gelatineplatten wurden gegossen und Agar-Strichculturen gemacht.

Am 6. Tage starb das Kaninchen mit der Darmligatur.

Die Section ergab Peritonitis mit reichlichem Exsudat in der Bauchhöhle. Kurze Stäbchen fanden sich in der peritonischen Flüssigkeit, in der Leber und Milz.

Die Platten von beiden Kaninchen zeigen charakteristische Häutchen von Bact. coli. Die mikroskopische Untersuchung zeigt Stäbchen gleich dem Bact. coli.

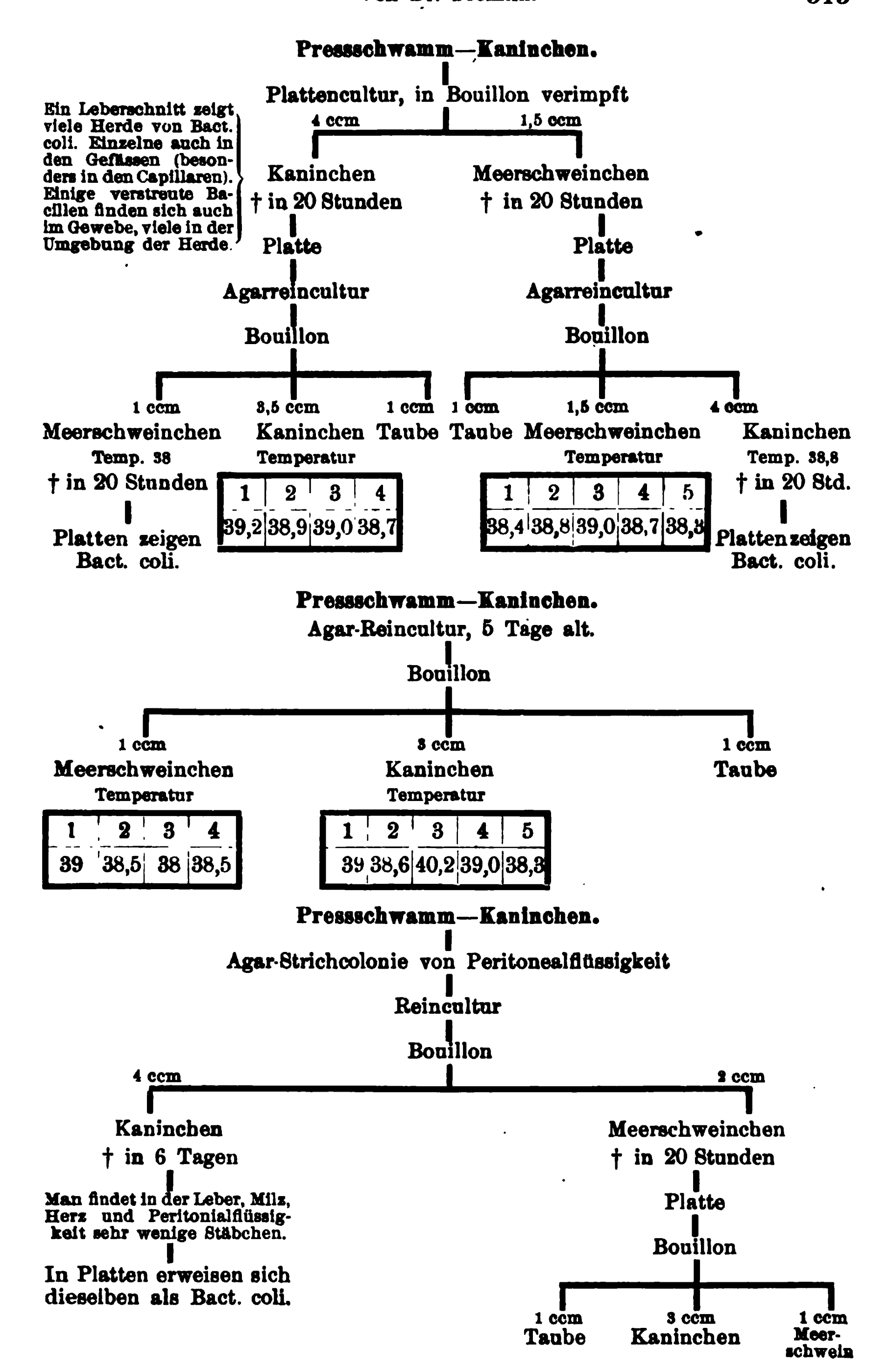
Die Agarstrichcultur zeigt nach 24stündigem Stehen bei 37° C. ein Stäbchen, welches wie Bact. coli commune geformt ist, aber in seinen Bewegungen bedeutend rascher ist, als das letztere zu sein pflegt.

Durch Geisselfärbung findet man 1, gelegentlich auch 2 oder 3 Geisseln.

Mit dem aus der Peritonealflüssigkeit gezüchteten Bact. coli wurden folgende Versuche angestellt, um zu prüfen, ob es giftig oder ungiftig wäre.

Von Agarstrich- und Bouillonreinculturen wurden Thiere inficirt. Von Gelatineplatten wurden Reinculturen entnommen und auf Bouillon verimpft. Von Gelatineplatten wurden Reinculturen auf Agar angelegt und von diesen auf Bouillon verimpft. Alle Bouillonculturen blieben 24 Stunden bei 37°, bevor sie zur Infection benützt werden.

Die Thiere, bei denen auf der folgenden Tabelle nicht bemerkt ist, dass sie nach der Impfung starben, blieben gesund.



1	2	3	4
39,2	38,9	39,0	38,7

1	2	3	4	5
38,4	38,8	39,0	38,7	38,8

1	2	3	4
39	38,5	38	38,5

1	2	3	4	5
39	38,6	40,2	39,0	38,8

Pressschwamm—Kaninchen.

Agar-Reincultur

Filtrirte keimfreie Bouillon

5 ccm
Kaninchen

Temperatur

1	2	3
39,6	40,0	39,2

Indol-Reaction.

Zu einer Cultur in Peptonwasser, 72 Stunden alt, wird 1 ccm einer 0,02 proc. KNO_2-Lösung und dann ein wenig verdünnte Schwefelsäure hinzugefügt. Bact. coli gibt dann in allen Fällen die Reaction, Typhusbacillus nicht.

Morphologie.

Das Bact. coli commune ist ein Kurzstäbchen von 1—3 ccm Länge und etwa 0,8 ccm Breite. Es kann sowohl als Aërobe, wie als Anaërobe gezüchtet werden. In frischen Culturen zeigt es eine geringe Beweglichkeit und zwar deutlicher bei Agarculturen. Im hängenden Tropfen erscheinen die Bacillen gewöhnlich einzeln, manchmal zu zweien. Sie besitzen 1 Geissel, und nur sehr selten, bei den virulenten Sorten, findet man mehr als eine.

Resultate.

Auf Gelatine entwickeln sich sowohl Häutchen als Pünktchen. Die Häutchen zeigen bei seitlichem Licht Perlmutterglanz. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Kartoffeln wachsen die Colonien in der Regel in gelben bis orange-braunen Strahlen, welche bestrebt sind, sich über die Kartoffel zu verbreiten.

Milch wird bei 37° C. in 4 Tagen zur Gerinnung gebracht. In Zuckerbouillon und Zuckergelatine wird deutliche Gährung erzeugt. Auf Agar geschieht das Wachsthum in weissen glänzenden Colonien, welche schnell wachsen. Schon nach 4 Stunden kann man bei 37° C. mit blossem Auge die Entwickelung wahrnehmen. Bouillon wird in wenigen Stunden getrübt. In 24 Stunden bildet sich bei 37° C. ein Bodensatz.

Sporen scheinen nicht gebildet zu werden. Das Bact. coli ist nach den gewöhnlichen Methoden aber nicht nach Gram färbbar.

Die Bacteria coli, welche aus den verschiedenen Thieren gezüchtet werden können, zeigen grosse Aehnlichkeit. Die Grösse scheint bei allen gleich zu sein. Die Bewegungen des Bact. coli vom Menschen sind etwas heftiger als bei den anderen Sorten, und das von Kaninchen stammende Bact. coli zeigt sehr geringe, oft gar keine Beweglichkeit.

Bei dem Wachsthum auf Platten bemerkt man, dass die Häutchen immer äusserst dünn sind.

Beim Wachsthum auf Kartoffel sind nur geringe Unterschiede. Unter abnormen Bedingungen, wie Zusatz von Essigsäure oder Soda zur Kartoffel, zeigt das Bact. coli vom Menschen mehr die Neigung, sich wie Typhus zu entwickeln, als die anderen, welche diese Erscheinung nur auf sauren Kartoffeln zeigen.

In Bezug auf die Gährung zeigen sich wenig Unterschiede auf gewöhnlichen gezuckerten Nährsubstanzen. Das Bacterium coli vom Kaninchen zeigt die geringste Fähigkeit, Gas zu entwickeln; wenn aber Soda hinzugefügt wird, dann entwickelt es mehr Gas als die anderen.

Das Bacterium coli des Menschen ist gegen höhere Temperaturgrade empfindlicher als die anderen Formen und gleicht darin dem Typhusbacillus.

Geisseln sind sehr schwer darzustellen, beim Bact. coli des Kaninchens niemals. Dasjenige Bact. coli, welches sich bei künstlichem Darmverschluss entwickelt und dabei geringe giftige Eigenschaften erhält, unterscheidet sich ein wenig von den anderen. An Grösse übertrifft es die anderen um ein Geringes. In der Regel zeigt es auch raschere Beweglichkeit, die besonders sich bemerkbar macht bei Agarculturen vom Peritoneum. Die Stäbchen erscheinen oft paarweise, gelegentlich auch in grösseren Verbänden. Die Geisseln lassen sich leichter nachweisen, wobei man zuweilen zwei findet.

Auf Gelatineplatten sieht man bei dieser virulenten Sorte mit blossem Auge nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur kleine Häutchen. Dies habe ich bei dem aus Fäces gezüchteten Bacterium coli niemals beobachtet. Auf Kartoffel wächst es in der gewöhnlichen Form und auf saueren Kartoffeln wie der Typhusbacillus;

von dem Wachsthum ist hier wenig zu sehen. Milch wird bei 37° C. in 3 Tagen zur Gerinnung gebracht. Die Fähigkeit, Gährung zu erregen, ist fast dieselbe wie beim Bact. coli vom Menschen.

Unterschiede zwischen Bact. coli und Typhusbacillus.

Zwischen dem Bact. coli und dem Bacillus des Typhus abdominalis existiren folgende Unterscheidungsmerkmale:

1. Die Beweglichkeit des Typhusbacillus ist eine viel lebhaftere und ausgiebigere.

2. Beim Typhusbacillus besteht eine grössere Neigung, Fäden zu bilden, indem 2 oder mehr Bacillen gewöhnlich zusammenhängen, und selbst 6 bis 10 in einem Faden keine ungewöhnliche Erscheinung sind; beim Bact. coli ist eine so grosse Zahl zusammenhängender Bacillen fast niemals zu sehen.

3. Das Wachsthum auf der Gelatineplatte geschieht merklich langsamer, und gewöhnlich sind die Typhuscolonien erst nach 3 Tagen so weit entwickelt wie zweitägige Colonien von Bact. coli. Dieses langsame Wachsthum ist auch auf Agarculturen und Gelatinestichculturen zu beobachten.

4. Auf Kartoffeln sind seine Colonien fast unsichtbar im Gegensatz zum Bact. coli, welches gewöhnlich sehr deutlich in breiten, orangefarbenen Strahlen wächst.

5. Der Typhusbacillus hat keine gährungserregende Kraft, das Bact. coli besitzt dieselbe in sehr ausgesprochenem Maasse.

6. Der Typhusbacillus bringt die Milch nicht zur Gerinnung, wie es das Bact. coli thut.

7. Typhusbacillen haben viele Geisseln. Es bietet keine Schwierigkeit ein gutes Geisselpräparat von einer Cultur in der 1. Woche zu erhalten. Ich habe Präparate, welche Geisseln zeigen, aus Typhusbacillenculturen im Alter von 2 Stunden, 4 Stunden, 24 Stunden, 8 Tagen, 13 Tagen und 4 Monaten. Darin liegt ein wesentlicher Unterschied vom Bact. coli, bei welchem es zu jeder Zeit sehr schwierig ist, ein Geisselpräparat anzufertigen, selbst unter den günstigsten Bedingungen.

8. Das Bact. coli gibt die Indolreaction mit Kaliumnitrit, der Typhusbacillus nicht.

Ueber den Gewichtsverlust des Fleisches beim Erwärmen.

Von

Dr. Enrico Ferrati

aus Rom.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Berlin.)

Die Gewichtsabnahme des Fleisches beim Kochen, Braten oder Dünsten ist eine bekannte Thatsache; aber man hat dieselbe bis jetzt nie eingehender in ihrer Beziehung zur Temperatur untersucht. Zugleich mit dem Gewichtsverlust ändern sich aber sicherlich wesentliche Eigenschaften dieses wichtigen Nahrungsmittels. Bei der durch die Wärme hervorgerufenen Veränderung tritt aus dem Fleische, wie durch Nothwang[1]) im hiesigem Laboratorium näher quantitativ gezeigt wurde, neben dem Wasser und Salzen Extractivstoff und etwas Eiweiss aus; die zurückbleibende Masse wird also reicher an Trockensubstanz. Wir dürfen annehmen, dass je reicher das Fleisch an Trockensubstanz auf diesem Wege wird, desto mehr geronnenes Eiweiss in dem Fleisch sich finden wird und desto zahlreicher auch die in der Volumeinheit enthaltenen Muskelfibrillen sein müssen. Der den Kauwerkzeugen sich entgegenstellende Widerstand erhöht sich mit der Zunahme der geronnenen Eiweisssubstanz und mit der Zunahme der Faserzahl; die Kaubarkeit des Fleisches ist aber ihrerseits wiederum unzweifelhaft eine Ursache, welche die Schmackhaftigkeit einer Fleischsorte mit bedingt. Die praktische Bedeutung der Beziehungen zwischen Temperatureinwirkung, Gewichtsverlust, Kaubarkeit und

1) Dieses Archiv Bd. XVIII, S. 80.

Schmackhaftigkeit ist also einleuchtend und die Frage wichtig genug, um ihre experimentelle Prüfung in Angriff zu nehmen. Ich habe daher auf Anregung von Prof. Rubner eine grössere Zahl von Versuchen zur Durchführung gebracht.

Im allgemeinen verfuhr ich dabei folgendermassen:

Aus einem grösseren möglichst gleichmässigen Stück Fleisches schnitt ich Stücke von etwa 20—25 g parallel der Faserung aus und kürzte sie auf geeignete Länge. Alsdann kamen sie sofort in ein mit Glasstopfen verschlossenes Wiegegläschen. Ein Theil der Fleischstücke wurde für die Wasser- und Fettbestimmung zurückgehalten. Die Bestimmung des Fettes kann nicht unterbleiben. Wir müssen ja annehmen, dass die Verminderung des Gewichtes des Fleisches beim Erhitzen von der Menge des coagulirenden Eiweisses abhängig ist; ein höherer Fettgehalt könnte daher durch das relative Zurückdrängen des Eiweisses unbedingt das Endresultat in dem Sinne beeinflussen, dass fettes Fleisch im Verhältnis zu seinem Masse durch die Hitze nur wenig an Gewicht verliert, mageres aber weit mehr.

Die Trockenbestimmung des Fleisches nahm ich bei 105° in üblicher Weise vor, die Fettbestimmung im Soxhlet'schen Extractionsapparat.

Die Fleischstücke wurden nach dem Wiegen rasch in Röhren gebracht, welche oben mit einem Kork luftdicht geschlossen werden konnten. Der Kork war mit einem eisernem Häkchen und einem mittels Durchbohrung in das Innere des Röhrchens ragenden Thermometer versehen.

Dieses in genannter Weise adjustirte Röhrchen versenkte ich in ein Becherglas, dessen Wasser auf eine gewünschte Temperatur gebracht und nach dem Eintauchen des Röhrchens eine Stunde lang auf gleicher Temperatur erhalten wurde. Das Fleischstück übertrug ich sodann zum Zwecke der Gewichtsbestimmung in ein Wiegegläschen.

Die Temperaturbestimmung muss, wie ich gesehen habe, unbedingt in dem Röhrchen, in welchem das Fleisch hängt, vorgenommen werden; sie ist um etwa 4—5° niedriger als die Temperatur des umgebenden Wassers; alle Temperaturangaben beziehen

sich auf die Innentemperatur des Röhrchens. Bei der Kleinheit der Fleischstücke war anzunehmen, dass in einer Stunde mit Bestimmtheit eine gleichmässige Erwärmung eingetreten war.

Zunächst werde ich nur jene Fälle in Betracht ziehen, bei welchen die Temperatur 100° nicht überstiegen wurde.

Rindfleisch.

Das Rindfleisch wurde in den meisten Fällen frisch verwendet, d. h. nachdem es einige Stunden in einem Gläschen eingeschlossen sich befand, um die beim einfachen Lagern austretende Menge von Fleischflüssigkeit zu erfahren. In einem Falle haben wir probeweise Fleisch 3 Tage auf Eis lagern lassen.

Nachstehende Tabelle enthält die gewonnenen Ergebnisse; die 5 Versuche wurden in dem letzten Stab zu einem Mittelwerth zusammengefasst.

Tabelle I.

Temp. in 0° C	% Gewichtsverlust					Mittelwerth des % Gewichtsverlustes	Bemerkungen
	1.[1])	2.	3.[2])	4.	5.		
15	—	—	2,25*	0,73*	0,24*	0,01*	In einigen Stunden.
45	1,12	1,24*	7,26	3,92	41,53	3,61	* Vorher 3 Tage auf Eis.
56	6,95	2,42	14,00	13,79	16,94	10,82	
66	16,10	36,05	24,25	22,79	34,04	26,65	
75	34,2	39,00	36,08	35,36	42,06	37,80	
86	42,61	49,27	47,34	41,43	47,34	45,60	
95	43,10	—	47,78	45,63	52,80	47,33	

In allen Fällen zeigte sich mit zunehmender Temperatur ein vermehrter Gewichtsverlust; derselbe schreitet aber in den einzelnen Versuchen nicht immer gleichmässig weiter; offenbar wird die Gerinnung einer Muskelfaser von vielen nebensächlichen Momenten abhängen. Vom Muskelalbumin wissen wir mit Bestimmtheit, dass seine Coagulationsgrenze je nach der Quantität der im Fleisch vorhandenen Säure variirt. Vielleicht verhalten sich andere Muskeleiweissstoffe ähnlich.

1) Probe 1. und 2. enthielten 5,29% Fett der Trockensubstanz.

2) Probe 3. 24,09% Trockengehalt, 4,31% Fett der Trockensubstanz,
» 4. 23,33 » » 4,64 » » » »
» 5. 22,53 » » 4,17 » » » »

Von 15—45° ist die Gewichtsabnahme nur gering, sie nimmt dann innerhalb der Grenzen der Gerinnung des Muskeleiweisses deutlich zu; am ausgiebigsten ist der Gewichtsverlust zwischen 56—66° gewesen, wo er um 15,83 % anwächst, geringer ist der Zuwachs bei 66—75° (+ 10,65 %), noch geringer bei 75—86° (+ 8,3); die Steigerung der Höhe bis 96° brachte kaum mehr weiteren Zuwachs (+ 1,73).

Kalbfleisch.

Die Versuche mit Kalbfleisch lieferten ein sehr gleichmässiges Resultat; das Ausfliessen von Fleischsaft bei niederen Temperaturen war sehr unbedeutend.

Tabelle II.

Temp. in °C.	% Gewichtsverlust				Mittelwerth des % Gewichtsverlustes
	1.[1])	2.	3.[2])	4.	
15	0	—	1,38	—	0,34
50	14,13	12,89	13,95	17,79	14,69
60	24,90	25,85	25,18	31,40	26,84
70	38,01	40,32	39,01	39,38	39,16
80	43,68	43,86	45,16	46,32	44,76
90	46,50	48,20	46,10	48,40	47,30

Mit Zunahme der Temperatur steigt mit jedem Intervall der Gewichtsverlust, aber doch nicht gleichmässig. Zwischen 15—50 ist der Verlust noch nicht gross, aber doch erheblicher als bei Rindfleisch zwischen 15—45°. Bei 50—70° findet sich die erheblichste Grösse für die Gewichtsabnahme, dann fallen die Werthe bis gegen die Siedetemperatur hin wieder ab. In diesem gesetzmässigen Gange herrscht zwischen Rind- und Kalbfleisch also vollkommene Uebereinstimmung.

Schweinefleisch.

Da das Schweinefleisch einen bisweilen stark schwankenden Fettgehalt besitzt, habe ich drei verschiedene Sorten untersucht;

1) Probe 1. u. 2. Trockensubstanz 24,37%; 3,23% Fett der Trockensubst.
2) » 3. » 4. » 24,13 » 3,32 » » » »

Alle waren weit fetter als Rind- und Kalbfleisch unter einander, aber nicht so erheblich different.

Tabelle III.

Temp. in 0° C.	% Gewichtsverlust						Mittelwerth des % Gewichtsverlustes
	1.[1])	2.	3.[2])	4.	5.[3])	6.	
15	0	—	0	—	0	—	0
50	5,28	—	14,82	15,62	4,12	8,29	8,90
60	22,44	—	25,42	27,17	13,02	19,23	21,62
70	36,34	33,08	30,28	36,50	27,40	28,65	32,04
80	34,64	38,23	44,73	40,80	35,53	39,32	38,88
90	42,51	41,04	48,75	42,58	39,15	44,89	43,15

Auch hier ergibt sich das gleiche Bild, wie wir es bisher gesehen haben; bei Zunahme der Temperatur steigt der Verlust an Gewicht an, aber nicht gleichmässig mit der Temperatur, sondern zwischen 50—70° am meisten.

Wir werden am besten thun, die drei verschiedenartigen Fleischsorten nebeneinander zu stellen, um sie zu vergleichen; zu diesem Zwecke habe ich die folgende Tabelle berechnet, welche für jedes Temperaturintervall angibt, um wie viel Procente innerhalb dieser Grenze der Gewichtsverlust zunimmt.

Tabelle IV.

Zunahme des %igen Gewichtsverlustes.

Temp.	Rindfleisch	Kalbfleisch	Schweinefleisch
15—45	3,0	—	—
15—50	—	14,3	8,9
45—56	7,2	—	—
50—60	—	12,1	12,7
56—66	15,8	—	—
60—70	—	12,3	10,4
66—75	10,6	—	—
70—80	—	5,6	6,8
75—86	3,8	—	—
80—90	—	2,6	4,2
86—96	1,7	—	—

1) Probe 1. und 2. 23,26% Trockensubst.; 12,37% Fett d. Trockensubst.
2) » 3. » 4. 27,46 » » 19,71 » » » »
3) » 5. » 6. 24,77 » » 15,60 » » » »

Aus den Zahlen folgt, dass bei Stubentemperatur das Rindfleisch eine grössere Tendenz, Saft abzuscheiden, besitzt, als Kalb- und Schweinefleisch. Bei Temperatur bis 40° verliert Kalbfleisch mehr an Gewicht als Rind- und Schweinefleisch. Zwischen 50—70° gleichen sich die verschiedenen Fleischsorten sehr, indem hier der Gewichtsverlust am grössten ist; er nimmt bei allen Fleischsorten mit geringen Differenzen wieder gegen die Siedetemperatur hin ab.

Der Gewichtsverlust beträgt an Procent:

		Rindfleisch[1])	Kalbfleisch	Schweinefleisch
bei halbgarem Fleisch	60°	28,3	26,8	21,6
„ garem Fleisch	70°	31,3	39,2	32,0
„ „ „	90°	47,3	47,3	43,1.

Einen Einfluss des Fettgehalts lassen unsere Ergebnisse nicht erkennen; vermuthlich wird derselbe durch irgendwelche andere Bedingungen für den Gewichtsverlust übercompensirt.

Die Temperaturen über 100° wirken auf das Fleisch zwar auch bei der Zubereitung ein, aber sie betreffen nicht immer das ganze Fleischstück. Am häufigsten wird beim Braten eine über 100° liegende Temperatur verwendet, sie trifft aber nur die äussere Rinde, nicht die Innensubstanz des Fleisches. Hohe Temperaturen wirken ferner beim Rösten auf das Fleisch. Sie erreichen sehr häufig solche Grade, dass eine partielle Zersetzung des Fleisches eintritt.[2]) In neuerer Zeit will man daran gehen, das Fleisch tuberculöser Thiere vor dem Verkauf abzukochen, bezw. »im Dampf zu sterilisiren“. Man hat dazu gespannten Dampf mit Temperaturen bis 118° und darüber verwendet. Ich wünschte daher auch festzustellen, ob über 100° auch noch die Hitze einen weiteren Gewichtsverlust erzeugt. Die mit den drei Fleischsorten ausgeführten Reihen zeigen folgendes:

1) Direct für diese Temperatur bestimmt.
2) s. Niemann, Archiv f. Hygiene, Bd. XIX.

Tabelle V.
% Gewichtsverlust bei Temperaturen zwischen 90—120°.

	Kalbfleisch			Rindfleisch			Schweinefleisch		
	1.	2.	Mittel	1.	2.	Mittel	1.	2.	Mittel
90	—	—	—	—	—	—	37,49	41,75	39,62
100	46,69	46,70	46,70	44,05	46,68	45,59	42,22	41,62	41,92
110	50,26	50,58	50,56	46,89	52,65	49,77	42,90	43,86	43,38
120	51,69	52,43	52,06	57,65	53,03	55,34	49,55	50,55	50,05

Bei Schweinefleisch wächst der Verlust von 90—100° wenig, von 100—110° auch nur langsam, dann von 100—120° wieder erheblicher. Bei dem Rind- und Kalbfleisch wurde nur 100, 110 und 120° einwirken gelassen mit dem Ergebnis, dass in allen Fällen ein mit der Temperatur wachsender Gewichtsverlust eintrat. Es ist daher nicht gerathen, ohne jede weitere Erwägung das Fleisch beliebig hohen Temperaturen auszusetzen.

Wie im hiesigen Laboratorium beobachtet wurde, verändern Temperaturen bis zu 115° die Extractivstoffe des Fleisches in günstiger Weise; erhitzt man darüber hinaus, so nimmt der Wohlgeruch des Fleisches und der Brühe wieder ab. Die über 100° liegenden Temperaturen haben aber leider, wie gesagt, den Nachtheil, dass sie das schon bei 100° erheblich geschrumpfte Fleisch noch mehr zur Contraction veranlassen.

Einfluss der Todtenstarre auf das Muskelfleisch.

Frisch geschlachtetes Fleisch gilt allgemein als zähe und nicht geeignet für Kochzwecke; man nimmt an, dass die Todtenstarre das Fleisch weicher und mürber mache. Gewiss denkt man bei dieser Wirkung der Todtenstarre zunächst an chemische Veränderungen, welche das Fleisch eingeht, sei es nun, dass schon die Starre bereits das rohe Fleisch verändert, oder dass bei dem Koch- und Bratprozess erst diese Umwandlung eintritt. Immerhin aber bleibt die Möglichkeit, zu prüfen, in wie weit etwa durch die Starre die Gerinnungen in der Muskelfaser Aenderungen erleiden. Um letzteres zu prüfen, schlachtete ich kräftige

Kaninchen und schnitt aus verschiedenen Stellen je zwei Stückchen Muskeln heraus. Das eine wurde sofort, das andere nach Eintritt der Todtenstarre (Säuerung) auf sein Verhalten bei 100° (1 Stunde lang) untersucht.

Ich fand bei Muskelproben vom Bein im Mittel aus 3 Versuchen:

vor der Erstarrung 41,62% Gewichtsverlust
nach „ „ 42,26% [1]) „

Es war also nach der Erstarrung der Gewichtsverlust grösser als vor derselben, aber die Differenz fällt fast in die Fehlergrenzen; deshalb wiederholte ich diese Versuchsreihen mit allergrösster Sorgfalt. Es zeigte sich:

bei den Schenkelmuskeln	vor	der Erstarrung	38,40%	Gewichtsverlust
„ „ „	nach	„ „	44,10%	„
„ „ Rückenmuskeln	vor	„ „	38,84%	„
„ „ „	nach	„ „	44,23%	„
beim Psoas	vor	„ „	44,71%	„
„ „	nach	„ „	48,56%	„

Ich halte es demnach für erwiesen, dass das Fleisch nach überstandener Todtenstarre durch die Hitze einen grösseren Gewichtsverlust zeigt, als vor derselben; die grössere Zartheit todtenstarren Fleisches muss also auf innere chemische Veränderungen bezogen werden.

Organe der Thiere.

Neben dem Muskelfleisch werden bei den meisten Thieren verschiedenartige Organtheile für die Ernährung des Menschen mitverwendet; durch die Eigenartigkeit ihrer Extractivstoffe bieten manche Organe dem Gaumen einen besonderen Reiz. Die morphologische wie chemische Beschaffenheit dieser eben genannten »fleischigen« Theile weicht von der des Muskelfleisches durchweg ab; wir werden daher auch ein sehr ungleiches Verhalten einzelner Organe gegenüber der Hitze erwarten dürfen. In der That erhielt ich sehr differente Werthe; bei einem Kaninchen fand sich

1) Der Psoas verlor 45,58%, Rückenmuskeln 40,91%.

	Gewichtsverlust in Procent	
Oberschenkelmuskel . .	42,26	„
Rückenmuskel	40,91	„
Psoas	45,58	„
Herz	52,15	„
Nieren	31,47	„
Leber	30,71	„
Lunge	15,04	„

An einem anderen Kaninchen ergaben sich bei Wiederholung des Versuches folgende Werthe.

	Gewichtsverlust in Procent	
Oberschenkelmuskel . .	44,10	„
Rücken	44,23	„
Psoas	48,56	„
Herz	58,45	„
Nieren	37,77	„
Leber	30,76	„
Gehirn	27,25	„
Lunge	18,49	„

Die beiden Reihen stehen also in vollkommen befriedigender Uebereinstimmung und zeigen, wie hochgradig ungleich die Hitze auf die einzelnen Organe einwirkte. Die Lunge verliert kaum $^1/_3$ von der Gewichtsabnahme, welche das Herz erleidet. Die Gründe dieses eigenthümlicben Verhaltens sind im Einzelnen kaum anzugeben, wir haben sie aber oben schon angedeutet. Bei dem Lungengewebe ist nicht auszuschliessen, dass ein Theil des ausgepressten Saftes in den Alveolen verbleibt.

Meine Versuche ergeben ein orientirendes Bild über die Wirkung der Wärme auf das Fleisch und die Organe; ich muss es aber den weiteren Arbeiten des Laboratoriums überlassen, die aus meinen Ergebnissen folgende Fragen chemischer Natur weiter zu verfolgen.

Ueber einen neuen für Thiere pathogenen Mikroorganismus aus dem Sputum eines Pneumoniekranken.

Von

Dr. Emil Bunzl-Federn.

(Aus dem hygienischen Institute der k. k. deutschen Universität in Prag.)

Am 26. November 1892 erhielt ich von einem Collegen, den ich aus Anlass anderer Untersuchungen um ein pneumonisches Sputum behufs Reingewinnung des Pneumococcus ersucht hatte, den Auswurf eines Patienten, der unter Schüttelfrost und hohem Fieber erkrankt war und die Erscheinungen einer croupösen Pneumonie darbot. (Ueber den weiteren Verlauf der Krankheit wurde mir nur so viel bekannt, dass der Kranke, bei welchem niemals Zeichen von Lungentuberculose bestanden hatten, nach wenigen Tagen eine Hämoptoë bekam und starb; die Obduction wurde nicht vorgenommen.)

Das Sputum hatte das Aussehen eines rostfarbenen pneumonischen Sputums. Ein Kaninchen erhielt sofort 0,6 ccm der Flüssigkeit subcutan in das linke Ohr; am 1. December trat eine Schwellung des Ohres auf, welche im weiteren Verlaufe zunahm; am 4. December morgens wurde das Thier todt gefunden. Bei der Section fand sich eine ausgebreitete, mit dickem Eiter bedeckte, nekrotische Stelle der Bauchhaut, Oedem der linken Kopfhälfte, starke Schwellung der axillaren Lymphdrüsen; die Milz war gross, weich; die Lungen blutreich. Ein Präparat von dem Eiter der nekrotischen Hautstelle enthielt keine Mikroorganismen; dagegen fanden sich im Herzblute Diplococcen ähnliche Gebilde ohne Kapseln. Vom Herzblute wurden Bouillon-

röhrchen und Röhrchen mit Ascitesflüssigkeit geimpft. Präparate, die von der getrübten Bouillon am nächsten Tage hergestellt wurden, zeigten Stäbchen neben Diplococcen, die Ascitesflüssigkeit dagegen enthielt nur Diplococcen etwa von der Grösse der Pneumococcen. Dieser verschiedene Befund liess zunächst an eine Verunreinigung der Bouilloncultur denken; da aber die Gram'sche Färbung auch bei den Diplococcen der Ascitesflüssigkeit negativ ausfiel, konnte es sich nicht um den Pneumococcus Fränkel-Weichselbaum, sondern nur um einen andern Mikroorganismus handeln. Am 6. December bekam ein zweites Kaninchen 1 ccm Ascitesflüssigkeit subcutan. Tod am 9. December. Sectionsbefund: Milz vergrössert; in der Trachea zahlreiche Hämorrhagien; sonst nichts Abnormes. Im Blute kurze Stäbchen und Diplococcen ähnliche Formen. Culturen in Bouillon und Ascitesflüssigkeit zeigten am nächsten Tage Stäbchen und Diplococcen. Von der Bouilloncultur wurde eine zweite Bouillon geimpft, von welcher ein drittes Kaninchen am 12. December 6^h abends 1 ccm subcutan erhielt; es wurde am nächsten Morgen todt gefunden: die Trachea war wieder stark hämorrhagisch, die Milz vergrössert; im Herzblute massenhafte Mikroorganismen, zum Theil kurze Stäbchen mit Polfärbung, zum Theil Diplococcen. Eine Bouilloncultur vom Herzblute wies schmale Stäbchen von verschiedener Länge, daneben Diplococcen auf. Auf Agarplatten, die vom Herzblute angefertigt wurden, entwickelten sich nach zwei Tagen zahlreiche Colonien, die theils schwach grau gefärbt und rund, theils weiss und wetzsteinförmig waren; die mikroskopische Untersuchung der verschiedenen Colonien sowie der von diesen angelegten Bouillonculturen erwies jedoch deren vollständige Uebereinstimmung. Um eine etwa inzwischen vorgekommene Verunreinigung sicher ausschliessen zu können, wurde von dem Reste der Ausgangscultur (Ascitesflüssigkeit) vom 4. December, welche nach einem Präparate vom 12. December nur Diplococcenformen enthielt, am 12. December 6^h abends einem vierten Kaninchen 1 ccm subcutan unter die Rückenhaut injicirt; dasselbe starb am 13. nachmittags. Bei der Section fanden sich Hämorrhagien unter der

Bauchhaut und in der Trachea, ausserdem Milzvergrösserung. Präparat vom Herzblut: zum grössten Theile Diplococcen, daneben kurze Stäbchen mit Polfärbung. Eine vom Herzblute angelegte Bouilloncultur enthielt am nächsten Tage kurze Stäbchen und Diplococcen; eine Agarstrichcultur dagegen erwies sich als aus feinen langen Stäbchen bestehend.

Dieser Unterschied zwischen der Bouillon- und Agarcultur war nun ein neuer auffälliger Befund, der weiterhin stets in vom Herzblute parallel angelegten Culturen zur Beobachtung kam. Wurde von Agar in Bouillon und von Bouillon wieder auf Agar übertragen, so trat meist derselbe Wechsel der Formen ein, indem die von einer Agarcultur geimpfte Bouillon fast ausschliesslich kurze Stäbchen und Diplococcen enthielt, die von einer Bouilloncultur stammende Agarcultur grösstentheils feine längere Stäbchen, auch feine gewundene Fäden — allerdings oft erst nach mehrtägigem Wachsthum.

Das Blut der inficirten Thiere und die von diesem angelegten Culturen zeigten stets die gleichen Formen, gleichgiltig ob die Thiere mit Agarcultur oder mit Bouilloncultur geimpft worden waren.

Der letzte, nach dem constanten Auftreten dieses Verhaltens eigentlich überflüssige Beweis für die Einheitlichkeit des Mikroorganismus wurde dadurch erbracht, dass von einer Serie von weissen Mäusen stets die eine mit einem Tropfen Herzblut der vorhergehenden verendeten Maus geimpft wurde. Der aus der letzten (vierten) Maus gezüchtete Mikroorganismus war vollkommen identisch mit dem aus dem ersten Kaninchen gewonnenen.

Der Mikroorganismus lässt sich mit den gebräuchlichen wässerigen Anilinfarben ziemlich schlecht färben, sehr gut mit Carbolfuchsin unter kurzem Erwärmen; auf die letztere Färbung beziehen sich auch alle weiteren morphologischen Angaben. Bei der Färbung nach der Gram'schen Methode tritt **Entfärbung** ein.

Der Mikroorganismus besitzt, wie aus dem Angeführten bereits hervorgeht, keine einheitliche, constante Form; dieselbe ist vielmehr, je nach dem Nährboden, auf welchem er gewachsen

ist, verschieden. Wählt man als Ausgangspunkt die Form, welche der Mikroorganismus im Blute inficirter Thiere zeigt, so treten schon hier Verschiedenheiten je nach der Thierspecies auf. Im Blute des Kaninchens und des Meerschweinchens findet er sich als kurzes, ziemlich dickes Stäbchen, welches häufig deutliche Polfärbung zeigt und sehr oft wie ein Diplococcus aussieht, indem die gefärbten Pole nahe aneinander rücken und nur durch eine schmale farblose Zone von einander getrennt erscheinen. Im Blute der weissen Maus sind die Stäbchen bei gleicher Dicke länger, oft doppelt so lang als beim Kaninchen; häufig sieht man zwei kurze Stäbchen nebeneinander, die schmalen Seiten einander zugekehrt; auch hier ist die Polfärbung oft deutlich ausgesprochen. Bei der Taube sind die Stäbchen wieder kürzer, an den Enden mehr abgerundet. Auf künstlichen Nährböden zeigt der Mikroorganismus stets dieselben Formen, mag die Cultur von welcher Thierspecies immer herstammen.

In Gelatinestichculturen ist der Beginn des Wachsthums erst nach mehreren Tagen zu erkennen. Nach acht Tagen zeigt sich an der Einstichstelle ein gezacktes, flaches Häutchen von weisslich-grauer Farbe; längs des Impfstiches bilden sich diskrete, punktförmige Colonien von grau-weisser Farbe, die später in's Bräunliche spielt. Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein. Das Präparat zeigt grösstentheils Diplococcenformen und kurze Stäbchen.

In Bouillon tritt bei Bruttemperatur nach 24 Stunden eine gleichmässige Trübung auf, im weiteren Verlaufe bildet sich oft ein ringförmiges, weisses Häutchen am Rande der Flüssigkeit; nach einigen Tagen klärt sich die Bouillon vollständig und setzt einen Bodensatz ab, der gewöhnlich in einen schleimigen Klumpen zusammengeballt erscheint, manchmal auch von mehr körniger Beschaffenheit ist; er lässt sich durch Schütteln gleichmässig in der Flüssigkeit zertheilen. In Bouillonculturen finden sich vorwiegend kleine Diplococcen, dann kurze Stäbchen, häufig zu zweien und längere, schlecht färbbare Stäbchen, die gleichsam Scheiden darstellen, in denen stärker gefärbte Punkte enthalten sind; mitunter sieht man auch innerhalb eines schwach gefärbten

Fadens 2—3 stark gefärbte kurze Stäbchen, die durch grössere Zwischenräume von einander getrennt sind; alte Culturen bestehen fast nur aus in Haufen liegenden Coccen.

Auf schiefem Agar bildet sich bei Bruttemperatur innerhalb 24 Stunden ein feucht glänzender Ueberzug, der aus feinen Tröpfchen besteht, die im auffallenden Lichte farblos, im durchfallenden grauweiss erscheinen; ein Zusammenfliessen derselben findet gewöhnlich nicht statt; in Culturen, die direct vom Blute angelegt werden, wachsen die einzelnen Colonien zu beträchtlicherer Grösse aus und verlieren dann ihre ursprünglich runde Form. Das Aussehen der Colonien auf Agarplatten wurde bereits erwähnt. In der Agarcultur überwiegen die feinen Stäbchen von der Länge und der Dicke der Tuberkelbacillen bei weitem über die anderen Formen, wie sie gewöhnlich in den Bouillonculturen auftreten; je älter die Cultur, desto länger sind die Stäbchen; oft erscheinen sie als Convolute langer gewundener Fäden, die hier und da stärker gefärbte Punkte enthalten.

In Milch und Lakmustheilen findet Vermehrung ohne sichtbare Veränderung derselben statt. Kartoffelculturen ergaben ein negatives Resultat.

Züchtungsversuche bei vollständiger Anaërobiose wurden nicht angestellt; der Mikroorganismus wächst aber reichlich in hoher Agarstichcultur und im Ei.

Uebertragungen gelingen von Bouillon-, Agar- und Eiculturen noch nach 4—6 Wochen, ohne dass die Virulenz innerhalb dieser Zeit wesentlich Einbusse erleidet.

Bei 43° bis 45° mehrere Tage gezüchtet, verliert der Mikroorganismus seine Lebensfähigkeit; Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Er besitzt keine Eigenbewegung.

Der in Frage stehende Mikroorganismus ist pathogen für die gebräuchlichen Versuchsthiere: Kaninchen, Meerschweinchen, weisse Mäuse, Tauben. Die Infection verläuft unter dem Bilde einer acuten Septikaemie; die Keime sind im Blute, in den Transsudaten und in Schnittpräparaten der Organe nachweisbar.

Kaninchen starben bei subcutaner Injection von $1/2$—1 ccm Bouilloncultur innerhalb 12 Stunden bis 3 Tagen; bei subcutaner

Impfuug mit einer Oese Agarcultur innerhalb 3—4 Tagen, bei subcutaner Impfung mit einem Tropfen Herzblut eines verendeten Thieres in 18 Stunden bis 4 Tagen. (Ein Kaninchen, dem 5 ccm einer frischen Bouilloncultur mit der Sonde in den Magen eingeführt worden waren, blieb gesund.) An der Impfstelle findet sich keine merkliche Veränderung; die Thiere werden matt, fiebern hoch, verlieren die Fresslust und sterben. Bei der Section zeigte sich die Milz immer deutlich vergrössert; in der Mehrzahl der Fälle bestanden zahlreiche Hämorrhagien in der Trachealschleimhaut, in zwei Fällen solche in der Darmschleimhaut, in je einem Falle in den Tuben und an der Oberfläche der Nieren; sonst zeigten sich nur noch die Lungen stärker mit Blut gefüllt, Hepatisation wurde nie beobachtet.

Bei Meerschweinchen trat der Tod nach subcutaner Einverleibung von 0,4—1 ccm Bouilloncultur in 2—4 Tagen ein, (einmal nach 1/2 ccm einer alten Cultur erst nach 7 Tagen). Eine Oese Agarcultur, subcutan beigebracht, tödtete ein Thier in 48 Stunden, ein Tropfen Herzblut eines inficirten Kaninchens in 36 Stunden; bei intraperitonealer Injection von 1/2 ccm starben 2 Thiere in 36, bezw. 60 Stunden. An der Injectionsstelle bildete sich häufig ein schmerzhafter Knoten, der aus nekrotischem Gewebe bestand. Sectionsbefund: blutig-seröses Exsudat in den Achselhöhlen, Trachealschleimhaut blass, Milz vergrössert; in einem Falle sahen die Brustmuskeln wie gekocht aus. Zwei Thiere, die erst am siebenten Tage nach der Infection gestorben waren, hatten eitrige Peritonitis und Pericarditis; (aus dem Exsudate wurde der Mikroorganismus in Reincultur erhalten). Bei zwei Thieren, die intraperitoneal inficirt worden waren, fand sich trübseröses Peritoneal- und Pericardialexsudat.

Weisse Mäuse wurden durch subcutane Impfung mit 0,1 ccm Bouilloncultur oder einen Tropfen Blut oder eine Oese Agar in durchschnittlich vier Tagen getödtet; das Unterhautzellgewebe war blutig-serös durchtränkt; die Milz vergrössert.

Eine Taube, die 0,2 ccm einer Bouilloncultur in den Brustmuskel erhalten hatte, starb nach 7 Tagen; es fand sich Nekrose des Muskelgewebes. Bouillonculturen, die vom Herzblute angelegt

wurden, tödteten bei subcutaner Injection von 1 ccm 2 Meerschweinchen erst in 5 bezw. 7 Tagen; vielleicht erfährt der Mikroorganismus beim Durchgang durch die Taube eine Abschwächung seiner Virulenz.

Der beschriebene Mikroorganismus, der aus dem Sputum eines an einer »Lungenentzündung« erkrankten Menschen stammt, ist demnach für Thiere pathogen und zeichnet sich durch einen besonderen Formenreichthum aus, indem er, je nach dem Nährmedium, in welchem er gezüchtet wird, alle Bilder vom Coccus bis zum langen gewundenen Faden darbieten kann. Ob er in ätiologischer Beziehung zu der Pneumonie jenes Individuums stand, konnte ich leider aus den Eingangs angeführten Gründen nicht ermitteln. Klein fand im Jahre 1889 [1]) einen Bacillus als Erreger einer umschriebenen Pneumonieepidemie, der in einigen Stücken mit dem von mir gefundenen Mikroorganismen übereinstimmt. Er zeigte »kurze, ovale Stäbchen, vereinzelt oder als Diplobacterien, mitunter etwas längere Stäbchen; in den Stäbchen findet man das Protoplasma an den Enden tief gefärbt«. Aehnliche Formen zeigt mein Mikroorganismus ebenfalls, daneben aber noch jene langen gewundenen Fäden. In Bezug auf das Wachsthum in Bouillon und Gelatine stimmen beide Keime überein, verschieden ist dagegen das Aussehen der Agarculturen. Ferner verhielten sich Tauben gegen Klein's Pneumobacillus vollkommen refractär, von Meerschweinchen starben nur 25 %; aus dem Herzblute der Meerschweinchen konnte der Bacillus niemals gezüchtet werden, wohl aber aus dem Blute der weissen Mäuse. Die Unterschiede beider Mikroorganismen sind demnach so gross, dass ihre Identität ausgeschlossen erscheint; ebenso wenig stimmt mein Mikroorganismus mit irgend einer der in der 3. Auflage von Eisenberg's bacteriologischer Diagnostik (1891) angeführten Arten überein. In Bezug auf die Benennung und Classificirung wäre der Mikroorganismus in die Classe der Bacteriaceen nach Hueppe [2]) einzureihen.

1) Centralblatt f. Bacteriologie 1889.

2) Methoden der Bacterienforschung, 5. Aufl., 1891.

Ueber das Verhalten der Choleravibrionen im Taubenkörper und ihre Beziehungen zum Vibrio Metschnikovi.

Von

Dr. **Hugo Salus,**

(Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität zu Prag.)

Die Bezeichnung der vorstehenden Arbeit wird dem mit den bisherigen Untersuchungen über die Cholerabacterien Vertrauten andeuten, dass sie sich mit der Nachprüfung und Berichtigung von Forschungen beschäftigt, die Pfeiffer und Nocht[1]) vor einiger Zeit in der Zeitschrift für Hygiene unter ähnlichem Titel veröffentlichten. Diese Forscher kamen im wesentlichen zu dem Resultate, dass

1. der Vibrio Metschnikovi für Tauben ganz ausserordentlich pathogen ist, während die Cholerabacterien für diese Thiere so gut wie gar keine Virulenz besitzen;

2. dass es möglich ist, Meerschweinchen und Tauben gegen V. Metschnikovi zu immunisiren;

3. dass eine wechselseitige Immunität der mit V. Metschnikovi vorgeimpften Thiere gegen Cholera asiatica und umgekehrt nicht besteht.

Da unsere Versuche, Tauben mit Cholera zu inficiren, zu ganz anderen Ergebnissen führten, so vervollständigte ich unsere

1) R. Pfeiffer und Nocht, Ueber das Verhalten der Choleravibrionen im Taubenkörper, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. VII, 1889, S. 259, und R. Pfeiffer, Ueber den Vibrio Metschnikoff und sein Verhältnis zur Cholera asiatica, daselbst S. 347.

Versuche auf Wunsch meines hochgeehrten Chefs, Herrn Prof. Dr. Hueppe, und werde im folgenden zuerst mich mit dem Verhalten der Cholerabacterien gegen Tauben beschäftigen und dann die Wechselbeziehungen der Cholerakeime zu dem V. Metschnikovi ausführen. Die Nothwendigkeit der Veröffentlichung meiner Untersuchungen ergibt sich aus dem Umstande, dass, gestützt auf die stricten Ergebnisse der Pfeiffer'schen Untersuchungen, fast kein Forscher die Tauben mehr zum Cholerathierversuche heranzog, so dass z. B. noch im Julihefte der »Hygienischen Rundschau« 1893 Hammerl mittheilen konnte:

»Vincenzi und Sclavo berichten übereinstimmend, dass sie schon mit einem Tropfen Bouilloncultur die Thiere sicher tödten konnten, und dass ihre aus Massaua und Ghinda herrührenden Vibrionen virulent genug waren, um auch bei Tauben positive Resultate zu erzielen. Diese letztere Beobachtung steht ganz vereinzelt da und ist von umso grösserem Interesse, als bekanntlich die mangelnde Giftigkeit der Commabacillen für Tauben als das wichtigste Unterscheidungsmaterial zwischen dem Vibrio der Cholera und dem V. Metschnikoff angesprochen wird.«

So vereinzelt stehen nun freilich die Beobachtungen dieser Beobachter nicht da. So berichten ausser Metschnikoff unter anderen Pawlowsky und Buchstab[1]): »Die Choleravibrionen vermehren sich nach den Beobachtungen Tamalei's (Gamaleïa's?) vorzüglich im Blute der Tauben. Hier lässt sich die Choleraerkrankung auf den ersten Blick nicht auf Vergiftung durch chemische Gifte, nicht auf Intoxication zurückführen, sondern auf reine Infection von Seiten der Choleramikroben im Organismus«. Freilich bedürfen diese Untersucher zur Tödtung der Tauben einer Dosis von 5 ccm Bouilloncultur, wobei gewiss die Gifte nicht auszuschliessen sind!

Bei der Wichtigkeit der Unterscheidung zwischen Cholera und V. Metschnikovi glauben wir die Provenienz unserer Culturen

1) Pawlowsky und Buchstab, Weiteres zur Immunitätfrage und Blutserumtherapie gegen die Cholerainfection, Deutsche medicin. Wochenschrift 1893.

anführen zu müssen, damit von vornherein jeder Verdacht einer Verwechselung der Culturen ausgeschlossen sei. Die ersten Culturen, mit denen ich experimentirte, stammen aus Hamburg, von wo sie Herr Prof. Hueppe mitbrachte. Diese Culturen erwiesen sich in der ersten Zeit, October und November 1892, nur mässig virulent, insofern zur sicheren Infection eines Meerschweinchens ca. 1/8 und zur Infection einer Taube ca. 1/2 Agarcultur nothwendig waren. Immerhin waren sie für Tauben virulent. Nach dem Erscheinen der Arbeiten von Gruber und Wiener erbaten wir uns von diesen Forschern eine ihrer virulenten Culturen, welche aber nicht virulenter war als unsere, inzwischen öfters durch den Thierkörper gegangenen Culturen.

Endlich wurden zwei Culturen verwendet, die Herr Professor Hueppe aus München mitbrachte, deren eine sich angeblich durch besonders hohe Virulenz auszeichnete, die aber nicht grösser war als die unserer vorerwähnten Culturen, während der anderen die Eigenthümlichkeit zukam, eine besonders deutlich septikämisch verlaufende Thiercholera zu veranlassen.

Durch peinliche Isolirung bei der Uebertragung wurde jede Verwechselung unserer Culturen untereinander oder mit V. Metschnikovi sicher ausgeschlossen. Andererseits dürfte das bei Culturen so verschiedener Provenienz — wenn sie nur die nöthige Virulenz besassen — stets gleichlautende Resultat die Richtigkeit unserer Untersuchung in hohem Maasse erhärten.

I. Tauben sind für Infection mit dem Vibrio Kochi sehr empfänglich.

Positive Immunisirungsversuche der Tauben gegen den V. Metschnikovi hatten schon im Vorjahre, 1892, zum Vergleiche der Infectionsergebnisse mit denen der Cholera aufgefordert. Die damals angestellten Versuche ergaben aber in Bezug auf die Infection insoferne nicht ganz eindeutige Resultate, als die Tauben erst bei den sehr grossen Mengen von 1/2 bis selbst einer ganzen Agarcultur der Infection mit dem Vibrio choleræ Kochi erlagen. Erst als es uns gelungen war, durch mehrmaliges Passiren des Thierkörpers (Meerschweinchen) hochvirulente Culturen zu erlangen, wurden diese Versuche an Tauben wieder aufgenommen und

ergaben zweifellose Resultate. Diese Versuche beziehen sich auf 35 Tauben, von denen nach den oben erwähnten, nicht ganz eindeutigen Resultaten im Anfange der Experimente dreissig der reinen Infection mit wenig Material erlagen. Diese wurde in den meisten Fällen intramusculär ausgeführt, nur in einigen wenigen Fällen wurde intraperitoneal und intravenös injicirt.

Wir verwendeten erst Aufschwemmungen halber und selbst ganzer 18stündiger Agarculturen, konnten aber später mit Bruchtheilen einer Oese positive Resultate erzielen, also wirkliche Infectionen auslösen. In den nicht tödtlich verlaufenen negativen Fällen der ersten Zeit bildeten sich an den Injectionsstellen locale Nekrosen, die mit der Bildung von ungemein harten Narben ausheilten.

Schon dieser Umstand, dass selbst ziemlich grosse Dosen zu localen Reactionen, aber nicht zu einer allgemeinen Vergiftung führten, zusammengehalten mit den negativen Ergebnissen der Taubenimpfungen Pfeiffer's und Nocht's, erlaubt den Schluss, dass es sich bei der Impfung von Tauben mit Cholera gewiss nicht um eine Intoxication handelt. Dies musste uns veranlassen, die Versuche fortzusetzen, die dann auch mit kleinsten Gaben positive Resultate, also zweifellose Infectionen ergaben. Die Bedeutung der Menge in ihrer Beziehung zur Virulenz kann wohl kaum besser illustrirt werden, als durch den Wandel der Anschauungen, der sich bei Pfeiffer innerhalb ganz kurzer Zeit vollzog. Gamaleïa hatte seine positiven Impfungen an Tauben mit kleinen Mengen virulenten Materials (in Bouillon mit 3—5% Kochsalz cultivirt) als Infection aufgefasst und zwar zweifellos mit Recht. Demgegenüber hatte Pfeiffer überhaupt nur negative Resultate, was jetzt doch ganz sicher auf die geringe Virulenz seiner damaligen Choleraculturen bezogen werden muss, wie Gamaleïa sofort richtig vermuthete. Aehnlich ist es mit der Auffassung der Meerschweinchen-Cholera ergangen. Nachdem Hueppe 1887 zuerst mit sehr geringen Mengen sehr virulenten Materials diese Thiere intraperitoneal injicirt und dadurch eine zweifellose Infection bewirkt hatte, wurde jahrelang diese Möglichkeit von allen Seiten bestritten, weil in den Laboratorien das virulente

Material meist ausgegangen war. Erst R. Pfeiffer[1]) erhielt wieder ähnliche Resultate, die er aber aus anderen Gründen zunächst merkwürdigerweise als eine Intoxication auffasste. Gruber und Wiener[2]) kamen dann 1892 wieder zu fast denselben Resultaten wie Hueppe 1887 und zu derselben Deutung, gegenüber der von Pfeiffer, also zu der Ansicht, dass es sich um eine wirkliche Infection handelt. Als dann endlich R. Pfeiffer[3]) selbst mit einer sehr virulenten Cholera noch beweisendere, mit denen von Hueppe von 1887 genau übereinstimmende Resultate erhielt, liess er endlich seine Ansicht fallen, dass die Meerschweinchen-Cholera eine reine Intoxication sei, und erklärte sie für einen »aus Infection und Intoxication gemischten Process«, während alle übrigen Forscher diese Resultate Pfeiffer's in Uebereinstimmung mit den Auffassungen von Koch über Infection als zweifellose reine Infection deuten. Thatsächlich wird jetzt überall die Meerschweinchen-Cholera nach Hueppe als Infection aufgefasst, und ebenso muss, wie ich zeigen kann, auch die Tauben-Cholera nach Gamaleïa als Infection aufgefasst werden. Wenn nun Pfeiffer in seiner letzten Arbeit gegenüber Gruber und Wiener deren Gaben als »massive« im Hinblick auf seine eigenen letzten Ermittelungen bezeichnet, so hat er nur vergessen, dass diese »massiven« Dosen seine eigenen früheren Minimaldosen waren, ehe er in den Besitz noch virulenterer Culturen gelangt war.

Der Umstand, dass in unseren ersten Taubenversuchen auch »massivere« Dosen abgeschwächter, aber in ihrem Protoplasma sonst intacter Cholerabacterien nicht im Stande waren, den Tod der Tauben herbeizuführen, während nach der Pfeiffer'schen Auffassung von der Giftigkeit der Bacterienleiber, dies doch unter allen Umständen hätte eintreten müssen, dass aber im Gegentheil dieselben Bacterien nach Reactivirung ihrer Virulenz und Spaltungsfähigkeit den Tod mit weniger als dem hundertsten Theile

1) Untersuchungen über das Choleragift, Zeitschrift f. Hygiene, 1892, S. 393.

2) Cholerastudien von Gruber und Wiener, Archiv f. Hygiene, Bd. XV, 1892, S. 242.

3) R. Pfeiffer und Wassermann, Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität, Zeitschrift f. Hygiene, 1893, S. 46.

der anfänglich verwendeten Menge sicher herbeiführten, schliesst meine Taubenversuche als Infectionen an die Versuche und Deutungen der Versuche von Hueppe, Gamaleïa, Gruber und Wiener und neuerdings auch von Metschnikoff an.

Diesen jetzt ganz eindeutigen Versuchen gegenüber, welche die Thier-Cholera des Laboratoriums als echte Infection ergeben, und denen sich auch die eigenen Resultate Pfeiffer's zwanglos und eindeutig anschliessen, stehen andere, sich vielfach widersprechende Ergebnisse, wenn z. B. Wassermann[1]) angibt, dass er Meerschweinchen sicher mit sterilen Cholerabacterien tödten konnte, oder wenn Sobernheim[2]) anführt, dass er sogar mit gleicher Dosis lebender wie todter Cholerabacterien bei Infection per os Meerschweinchen tödten konnte, während derselbe Forscher andererseits angibt, dass bei intraperitonealer Injection grosser Gaben von Agarculturen seine Versuchsthiere nicht mehr als leichtes, vorübergehendes Unwohlsein zeigten. Der Widerspruch dürfte sich nach Versuchen von Hueppe wohl dahin lösen, dass in allen diesen Fällen die minimale Infectionsmenge nicht sicher ermittelt war, und deshalb zum Vergleiche mit der Infection mit zu grossen Mengen gearbeitet wurde. Dann erhält man aber auch sogar mit nicht pathogenen Bacterien positive Resultate, und dies musste mich in der experimentell begründeten Ansicht bestärken, die Hueppe[3]) zuerst ausgesprochen hat, dass nämlich der auf diese Weise eintretende Tod der Versuchsthiere ganz verschieden ist von einer specifischen Wirkung der Cholerabacterien, dass dieser Tod also kein Choleratod, sondern eine Eiweiss- oder Enzymintoxication (Tod durch heterogenes actives Eiweiss einer anderen Art) ist, und dass man von einer specifischen Reaction der Thiere auf einen specifischen Mikroorganismus bei diesen Versuchsanordnungen nicht sprechen könne.

---

1) Untersuchungen über die Immunität gegen Cholera asiatica von A. Wassermann, Zeischrift für Hygiene, Bd. XIV, 1893, S. 35.

2) Sobernheim, Experimentelle Untersuchungen über Choleragift, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. XIV, 1893, S. 485.

3) Berliner klinische Wochenschrift 1892, Nr. 17.

Der Einwurf, den man wohl dieser Ansicht entgegensetzen wird, dass es trotzdem gelingt, mit abgeschwächten oder abgetödteten Culturen bestimmter Mikroorganismen gegen diese zu immunisiren, ist inzwischen durch weitere Thatsachen überholt, da es eben zur Activirung der Alexine nur eines geeigneten Anstosses bedarf, welcher Anstoss aber nicht unbedingt homologer Natur zu sein braucht, wie z. B. die allerdings nicht richtig gedeuteten Versuche Klein's beweisen, der mit zweifellosen Saprophyten gegen Cholera immunisiren konnte, wie man denn überhaupt nach Hueppe zwischen einer allgemeinen, vorübergehenden Immunisirung durch Activirung der Alexine und einer specifischen Activirung der Abwehrkräfte des Organismus genau unterscheiden muss.

Der Verlauf einer Infection der Tauben mit vollvirulenter Cholera gestaltet sich nun im allgemeinen so, dass etwa eine Stunde nach derselben erst eine Temperatursteigerung von kurzer Dauer eintritt, die einem Absinken der Temperatur Platz macht, wobei jedoch grosse Schwankungen einzutreten pflegen, so dass selbst nach tiefen Remissionen der Temperatur noch vorübergehend Erhebungen der Curve bis über die Norm eintreten können. Erst gegen den Tod sinkt dann die Temperatur endgültig. Die Tauben sitzen etwa drei Stunden nach erfolgter Impfung somnolent im Käfig, häufig tritt eine auffallend starke Secretion aus den Drüsen des Kropfes ein, so dass den Thieren grosse Mengen trüber Flüssigkeit aus dem Schnabel triefen.

Die injicirte Brusthälfte schwillt indessen ziemlich bedeutend an und zeigt gegenüber der anderen eine deutlich erhöhte Temperatur. Bei den schon oben erwähnten Fällen von ungenügender Virulenz des Impfmateriales macht dann während der nächsten Tage und Wochen diese Schwellung einer hochgradigen Abmagerung der injicirten Brustseite Platz, und bei Palpation derselben fühlt man deutlich bis knorpelharte Narbenzüge sich bilden. Die Section ergibt sehr regelmässige Befunde: Die geschwollene Brustmusculatur ist sehr reichlich durchfeuchtet, längs des Injectionsstiches blutige Extravasate; am Ende des Stiches

ist oft die tiefliegende Musculatur in weiter Ausdehnung nekrotisirt, blass, wie gekocht, auf dem Durchschnitte fettig glänzend. Die Milz gewöhnlich stark vergrössert. Der Darm und seine Serosa nicht auffallend verändert. Die Leber gewöhnlich sehr blutreich, die Gallenblase oft deutlich vergrössert. Diesen Befund eines Hydrops der Gallenblase mit reichlichen Kommabacillen in dem Inhalte derselben fanden wir übrigens auch bei einigen unserer Meerschweinchensectionen, und er stimmt zu den früheren Erfahrungen von Hueppe und den neueren von Simmonds und Ratjen, die häufig bei Leichenöffnungen Choleraverstorbener Gallenblasenerkrankungen, besonders Hydrops, fanden.

Bacteriologisch wurden Kommabacillen in allen Fällen im Herzblute, bei den daraufhin speciell untersuchten Fällen auch in den übrigen Organen sicher durch die Cultur nachgewiesen. Unter allen Cautelen vorgenommene Impfungen aus der Leber, der Milz, den Nieren, den Hoden, aus dem Peritonealraume — auch bei intramusculärer Injection — ergaben innerhalb 10 bis 18 Stunden auf den Agarröhrchen Reinculturen von Cholerabacillen. Aus dem Darme angelegte Vorculturen in Bouillon oder Pepton-Kochsalzlösungen lieferten in den darauf durchforschten Versuchen Cholerabacterien, deren Erscheinen im Darme ich freilich nicht als etwas für die Taubencholera Specifisches deuten möchte, sondern als Folge der Ausscheidung aus dem Blute, entsprechend etwa der Ausscheidung anderer pathogener Mikroorganismen, besonders bei septikämischen Processen durch den Darm, die Nieren, die Schweissdrüsen. Der Uebertritt in den Darm ist wohl durch die nie ganz fehlenden Hämorrhagien bedingt. Diesen ist es wohl auch nach früheren Versuchen Hueppe's zuzuschreiben, dass sich auch in sehr vielen Fällen bei Meerschweinchen im Darminhalte Cholerabacterien finden, wenn dieselben auch in's Peritoneum injicirt wurden — eine Beobachtung, die wiederholt z. B. auch von R. Pfeiffer und Gruber und Wiener geleugnet, von mir aber wiederholt gemacht und neuerdings auch von Sobernheim als Regel bestätigt wurde.

Die aus München erhaltenen Culturen (von denen, wie berichtet, die eine sich durch besonders hohe Virulenz, die andere

durch den besonders auffallenden septikämischen Verlauf der durch sie erzeugten Erkrankung der Meerschweinchen auszeichnen sollte) ergaben keine von unseren Resultaten abweichende Resultate. Die mikroskopisch nachweisbare Zahl der Cholerakeime im Herzblute der Tauben war in allen Fällen eine nicht sehr grosse, mochten wir nun von unseren virulenten Culturen, oder der von Gruber ausgegangen sein, oder auch die »septikämische« aus München benutzt haben. In diesem Umstande liegt auch nach meinen bisherigen Erfahrungen der einzige Unterschied zwischen dem Vibrio Kochi und dem in allen seinen Lebenseigenschaften mit ihm vollkommen übereinstimmenden Vibrio Metschnikovi, der sich im mikroskopischen Herzblutpräparate nur in auffallend grösserer Zahl vorfindet, während man bei Choleratauben im Herzblute nur etwa 1—6 Vibrionen im Gesichtsfelde sieht, gegenüber der reichlicheren Zahl von Metschnikoff'schen Vibrionen nach Impfung mit diesen. Für die Auffassung der durch den Cholerabacillus erzeugten Taubenerkrankung dürften nun die folgenden Versuche, auf die ich übrigens bei Besprechung der Immunität noch einmal zurückkommen muss, von besonderer Wichtigkeit sein.

Eine Anzahl Tauben wurde in der gewöhnlichen Weise mit $^1/_4$ Oese einer 14stündigen, aus dem Herzblute einer am Vortage an Cholera crepirten Taube reingezüchteten Agarcultur intramusculär geimpft. Vier Stunden nach der Injection wurde die oberflächlich liegende Hautflügelvene freigelegt und aus derselben ein Tropfen Blutes entnommen und dieser auf Agar, Bouillon oder Peptonkochsalzlösung geimpft. Die bei 37° im Brutkasten gehaltenen Culturen ergaben am nächsten Tage Reinculturen von Choleravibrionen.

Die mit dem Vibrio Metschnikovi zu demselben Zwecke angestellten Versuche deckten sich vollkommen mit diesen bei Cholera gefundenen Ergebnissen.

Dass die nach dem Tode der Tauben angestellten Züchtungsversuche positiv ausfielen, bedarf keiner Auseinandersetzung.

Aus allen diesen Angaben halte ich mich zum Schluss berechtigt:

Der Vibrio Kochi besitzt im virulenten Zustande auch für Tauben eine sehr hohe Virulenz; die durch die Cholerabacillen erzeugte Erkrankung beruht bei Tauben auf Infection, die eingebrachten Keime vermehren sich lebhaft im Blute; der Process verläuft als Septikämie.

II. Es besteht eine Immunität der mit Cholera immunisirten Tauben gegen den Vibrio Metschnikovi und umgekehrt.

Die Angabe Pfeiffer's dass es leicht gelingt, Meerschweinchen und Tauben gegen den Vibrio Metschnikovi zu immunisiren, fanden wir, wie schon oben angegeben, vollinhaltlich bestätigt. Schon das Ueberstehen einer Impfung mit abgeschwächtem oder abgetödtetem Materiale genügt, um einen, wenn auch anfangs geringen, Grad von Immunität zu erzeugen. Verstärkt man diesen Grad von Impfschutz durch Wiederholung der Impfung mit den abgeschwächten Culturen, oder benützt man die Tauben, die nach vorangegangener Impfung mit abgeschwächtem Materiale eine Infection mit geringen Dosen virulenter Cultur überstanden, zur Weiterimpfung mit grösseren Gaben virulenten Materiales, so ist ein hoher Grad von Widerstandsfähigkeit zu erreichen, und dies gilt in gleichem Maasse für Impfungen mit den Cholera-Spirochaeten, wie für solche mit den Gamaleïa'schen Bacterien.

Parallel mit den am Schlusse des ersten Abschnittes meiner Mittheilungen angeführten Versuchen, einige Stunden nach erfolgter Infection das Blut der Versuchsthiere auf Anwesenheit der Keime zu untersuchen, wurden auch bei keimfesten Tauben Culturen auf den verschiedenen Nährböden angelegt, und zwar ebenfalls einige Stunden nach Einverleibung der vollvirulenten Dosen. Sowohl in diesen Fällen, als auch bei Einbringung abgeschwächten Materials oder ungenügender Dosen virulenter Cultur blieben die Nährböden vollkommen steril, auch bei Wiederholung der Culturversuche nach Ablauf weiterer 4—5 Stunden.

Aus diesen Versuchen ergibt sich — wenigstens für Tauben — mit Sicherheit die Thatsache, dass zur Infection untüchtiges Impfmaterial — sei es untüchtig wegen zu geringer Virulenz oder zu

geringer Dosirung — an Ort und Stelle festgehalten und abgetödtet wird. Erst wenn die Virulenz und damit auch die Vermehrungsfähigkeit im Körper stark genug ist, den Widerstand des vom Körper der Tauben gelieferten Schutzwalles zu überwinden, tritt eine Vermehrung der Keime im Blute auf, und damit die Erkrankung des Thieres. Eine Giftfestigung der Thiere scheint nicht erreicht zu werden, und erfolgt schliesslich die Immunisirung mit virulenten giftbildenden und kein oder wenig Gift bildenden abgeschwächten Culturen. Die Immunität — ich verallgemeinere zunächst diesen Standpunkt nicht und spreche nur von Tauben — beruht auf der Fähigkeit des Organismus, diesen Schutzwall auch gegen virulentes Material aufrecht zu erhalten und zwar nicht allein an dem Orte der ersten Infection, sondern auch an früher noch nicht zur Impfung benutzten Punkten des Körpers. Man könnte nämlich speciell bei unserer Versuchsanordnung der Impfung in den Brustmuskel den Einwand erheben, dass bei Benützung derselben Brusthälfte zur nachträglichen Infection mit virulenter Cultur die Vibrionen hier in ihrer Virulenz Einbusse erleiden, weil sie in dem reichlich mit Leukocyten durchsetzten, zum Theile nekrotisirten oder gar schon narbig veränderten Gewebe keine geeigneten Ernährungsbedingungen vorfinden. Bei nicht hochimmunisirten Thieren ergibt sich wirklich nach meinen Versuchen die Thatsache, dass die Tauben eine nachherige Infection mit virulenter Cultur in den schon vorher benützten Brustmuskel vertrugen, während sie einer Impfung in die intacte Brusthälfte erlagen. Zur Widerlegung dieses hiernach gewiss berechtigten Einwandes eignet sich nun gewiss kein Körper besser, als der Vogelkörper, bei dem durch die knöcherne Trennung beider Hälften der Brustmusculatur der ungeimpfte Muskel sich bei allen Sectionen vollständig intact erwies, während der andere die tiefgreifendsten Veränderungen erfahren hatte. Waren nun unsere Tauben durch oft wiederholte Impfungen in eine Brusthälfte hoch immun geworden, so vertrugen sie auch Inoculationen virulenten Materiales von der bisher intacten Brusthälfte aus. Wie weit hierbei Leukocyten als Fresszellen neben den activirten Alexinen thätig waren, und welcher besondere

Antheil jeder dieser Schutzeinrichtungen zuzusprechen ist, habe ich noch nicht ausreichend festgestellt.

War es mir nun gelungen, Tauben gegen einen der beiden geprüften Vibrionen zu immunisiren, so vertrugen dieselben auch die Impfung mit dem anderen Vibrio.

Freilich ergab dabei der Versuch eine quantitative Ueberlegenheit des V. Metschnikovi insoferne, als bei nicht hoch immunisirten Thieren nach Ueberstehen der Infection mit dem V. Metschnikovi ein Keimschutz gegen den V. cholerae sicher bestand, während ein mit Cholera nur mässig vorgeimpftes Thier die nachträgliche Infection mit dem V. Metschnikovi nicht überlebte:

Tabelle I.

Taube Nr.	Vorbehandlung	Infection	Bemerkungen
1.	3. VII. $^1/_2$ Oese einer seit 14 Tagen bei 37° im Brütkasten gehaltenen Agarcultur des Vibrio Metschnikovi; Temperatur vor der Einverleibung 41,2° C. 4 Stunden später 42,0° » 4. VII. 10 Uhr 43,3° » 12 » 42,6° » 5 » 43,1° » 5. VII. 9 » 40,8° » 6. VII. 12 » 42,6° »	6. VII. 1 Oese einer virulenten Agarcultur von Cholera, je eine Hälfte in eine Brustseite. 14. VII. 1 Oese virulenter Choleraagarcultur intramusculär, 20. VII. 1 Oese virulenter Metschnikoff-Agarcultur intramusculär.	Bleibt dauernd gesund. Eine Controltaube, mit $^1/_2$ Oese derselben Choleracultur geimpft, crepirt.
2.	3. VII. $^1/_2$ Oese einer seit 14 Tagen bei 37° im Brütkasten gehaltenen Agarcultur von V. cholerae; Temperatur vor der Einverleibung 41,2° C. 4 Stunden später 40,9° » 4. VII. 10 Uhr 42,3° » 12 » 41,8° » 5 » 42,1° » 5. VII. 9 » 42,5° » 6. VII. 12 » 42,2° »	6. VII. 12 Uhr 1 Oese virulenter Agarcultur von Vibrio Metschnikovi.	Crepirt in der Nacht. Section ergibt den typischen Befund.

Dagegen verfüge ich über fünf Tauben, die, mit Cholerakeimen vorgeimpft, einen hohen Grad von Immunität gegen diese

Vibrionen erlangten und dann eine Impfung mit dem V. Metschnikovi sehr wohl überstanden.

Tabelle II.

Taube	Vorbehandlung	Infection	Bemerkungen
grau	27. VI. 1/2 Oese vierzehntägiger Choleraagarcultur intramusculär, 29. VI. 1/2 Oese virulenter Choleraagarcultur in denselben Brustmuskel, 30. VI. 1 Oese virulenter Choleraagarcultur zu gleichen Theilen in jede Brustseite.	3. VII. 1/2 Oese virulenter Agarcultur des V. Metschnikovi intramusculär 11 Uhr 41,4° C. 4 » 41.5° » 4. VII. 11 » 41,3° » 6. VII. 1 Oese virulenter Agarcultur von V. Metschnikovi intramusculär.	Bleibt dauernd gesund. Die Virulenz der verwendeten Culturen wird an Controltauben erwiesen. Blut, zwei Stunden nach der Impfung aus dem durchschnittenen Kiel einer Flügelfeder entnommen, zu Culturversuchen verwendet, bleibt steril.
weiss	27. VI. 1/2 Oese einer Agarcultur von Cholera, seit 14 Tagen dem Sonnenlichte ausgesetzt, intramusculär, 29. VI. 1/2 Oese virulenter Choleraagarcultur in denselben Brustmuskel, 30. VI. 1/2 Oese virulenter Choleraagarcultur in den anderen Brustmuskel.	1. VII. 1/4 Oese virulenter Agarcultur von V. Metschnikovi intramusculär keine Reaction.	Wird dann noch am 3. und 6. Juli mit je einer halben Oese einer virulenten Agarcultur und am 13. VII. mit einer Oese virulenter Cholera geimpft. Bleibt dauernd gesund.
schwarz	12. VI. 1 Oese vierzehntägiger, bei 37° gehaltener Choleraagarcultur intramusculär, 13. VI. 3/4 Oese vierzehntägiger Choleraagarcultur, 14. VI. 1 Oese virulenter Choleraagarcultur in denselben Brustmuskel, 29. VI. 1 Oese virulenter Choleraagarcultur, je eine Hälfte in jeden Brustmuskel.	30. VI. 1 Oese einer zweitägigen Agarcultur von V. Metschnikovi, je eine Hälfte in jede Brusthälfte, 2. VII. 1 Oese virulenter Agarcultur von V. Metschnikovi.	Bleibt gesund. Agar- und Bouillon-Nährböden mit Blut aus der Flügelvene — 2 und 5 Stunden nach der Infection entnommen — beschickt, bleiben steril.
weiss a	Ebenso vorbehandelt, wie Taube	ebenso inficirt schwarz keine Reaction	Crepirt 1 1/2 Monate nach der letzten Impfung, hochgradigst abgemagert. Impfversuche aus dem Herzblute d. Taube negativ.

Taube	Vorbehandlung	Infection	Bemerkungen
blau	5. V. in den Kropf injicirt mit einer Oese Choleraagarcultur, 9. V. 1/2 Oese abgeschwächter Choleraagarcultur, 23. V. 1 Oese virulenter Choleraagarcultur, Temperatursteigerung um 2°, 26. V. 2 Oesen virulenter Choleraagarcultur, je eine Hälfte in einen Brustmuskel.	29. V. 1/4 Oese 20stündiger virulenter Metschnikoff-Agarcultur, wird dann mit steigenden Dosen des V. Metschnikovi am 6. VI. und 8. VI. geimpft. 29. VI. mit einer Oese virulenter Choleraagarcultur nachgeimpft.	Bleibt dauernd gesund. Zwei Controltauben ebenso mit 1/4 Oese derselben Cultur von V. Metschnikoff geimpft, crepiren.

Dass so behandelte Thiere nach Ueberstehen der Infection mit V. Metschnikovi auch wieder Impfungen mit dem V. Kochi überstehen, bedarf keiner weiteren Ausführung.

Aus diesen Versuchen, deren Ergebnisse im geraden Gegensatze zu den Versuchsresultaten Pfeiffer's und Nocht's stehen, muss ich schliessen, dass diese beiden Forscher mit Culturen experimentirten, deren Virulenz sehr stark abgeschwächt war, wie es Gamaleïa in seiner Kritik sehr richtig bemerkte. Denn meine mit Tauben verschiedener Art angestellten Untersuchungen ergaben so constante Resultate, dass nur in der Art der verwendeten Culturen die Ursache liegen kann, und dass ich auch der dritten anfangs erwähnten Schlussfolgerung der beiden Untersucher die meine entgegenstellen muss:

Es ist sehr wohl möglich, eine wechselseitige Immunität der mit dem V. Metschnikovi vorgeimpften Tauben gegen den V. cholerae und umgekehrt zu erzeugen.

Wenn ich nun auch nicht so weit gehe, wie Hammerl, der logischer Weise auf Grund seiner oben citirten Ansicht nunmehr die Identität der beiden Vibrionen erschliessen müsste, so ergeben meine Untersuchungen doch eine sehr nahe Artverwandtschaft zwischen dem V. Metschnikovi und der Cholera asiatica. Die von Pfeiffer angegebenen Form- und Culturunterschiede sind so geringe, unsere Kenntnisse über Variationen der Wachsthums- und Formeigenthümlichkeiten des V. Kochi in der letzten Zeit so erweitert, dass daraufhin wohl keine Differentialdiagnose mehr aufgebaut werden kann.

Weitere Untersuchungen über „Saprol".

Von

Priv.-Doc. Dr. **Scheurlen,**

Stabs- und Bataillonsarzt im Inf.-Regt. Grossherzog von Baden.

(Aus dem bacteriologischen Laboratorium der Kgl. technischen Hochschule zu Stuttgart.)

In einer früheren Veröffentlichung »über Saprol und die Saprolirung der Desinfectionsmittel«[1]) war ich auf Grund einer längeren Versuchsreihe zu dem Ergebnis gekommen, dass das saprolirte Rohkresol das geeignetste Desinfectionsmittel für flüssigen Grubeninhalt sei, dass die Saprolirung der Desinfectionsmittel überhaupt die einzige Methode ist, die eine Durchdringung des gesammten Grubeninhalts mit dem Desinfectionsmittel garantirt, und welche praktisch ausführbar ist.

Fast gleichzeitig mit der genannten Publication sind nun einige weitere Veröffentlichungen über Saprol erschienen, die sich theils mehr theils weniger gegen dasselbe ausgesprochen und andere Desinfectionsmittel demselben vorgezogen haben, übersehend, dass es sich bei dem Saprol um eine neue Desinfectionsmethode und nicht um ein neues Desinfectionsmittel handelt.

Diese Arbeiten[2]) haben mich zu einigen weiteren Untersuchungen veranlasst, die ich in Nachstehendem mittheile.

---

1) Archiv für Hygiene, 1893, Bd. XVIII, 1. Heft, S. 35.

2) Anschütz, Vergleichende Studien über die Desinfectionskraft des Lysol und Saprol auf Fäcalien angewendet. Dissertation. Rostock 1893. — Keiler, Saprol ein neues Desinfectionsmittel. Archiv für Hygiene, 1893, Bd. XVIII, 1. Heft, S. 57. — Die Arbeit Keiler's erschien als Dissertation

Fragen wir einmal, was von einem Grubendesinficiens zu verlangen ist, so muss E. Pfuhl[1]) unbedingt zugestimmt werden, dass es lediglich Cholera- und Typhusbacillen, also nur sporenfreie Mikroorganismen zu vernichten hat. »Ob die übrigen in den Stuhlgängen vorhandenen Mikroorganismen vom Desinfectionsmittel vernichtet werden oder nicht, ist gleichgültig.«

Ausser dem einfachen Hinzugiessen des Desinfectionsmittels kommen aber für die Praxis noch andere sehr wesentliche Momente in Betracht, deren Nichterfüllung einer gänzlich unterlassenen Desinfection gleichkommt.

Vor Allem muss das Desinficiens mit den zu vernichtenden Bacterien thatsächlich in Berührung kommen, es muss sich also mit dem gesammten Grubeninhalt mischen. Wir werden weiter unten sehen, dass dieses Erfordernis von allen Desinfectionsmitteln nur das Saprol erfüllt. Es darf zweitens das Desinfectionsmittel mit den Bestandtheilen des Grubeninhalts keine chemischen Verbindungen eingehen, die es wirkungslos machen. Man hat also namentlich immer zu bedenken, dass aus der Leistungsfähigkeit eines Desinfectionsmittels in dem einen Medium nicht auf die in einem anderen geschlossen werden darf.

Diesen zwei integrirenden Momenten der Desinfectionstechnik schliessen sich noch einige theoretisch weniger wichtige, aber für die Einführung der Desinfection in die Praxis doch sehr bedeutungsvolle Punkte an. So muss die Anwendung des Desinfectionsmittels bequem und einfach sein, dass auch das niederste Dienstpersonal sie auszuführen im Stande ist; es muss ferner billig sein und für Personen und Sachen unschädlich. Eine für die Praxis unendlich werthvolle Beigabe ist eine gleichzeitige desodorisirende Wirkung.

---

in Berlin am 23. December 1892. Sie kam mir erst Anfang Mai in die Hände, als bereits Sonderabdrücke meiner Arbeit ausgegeben waren; die wesentlichen Veränderungen in dem Anfang August im Archiv f. Hygiene erschienenen Abdruck der Keiler'schen Arbeit habe ich Grund als durch meine im selben Heft stehende, in Separatabdrücken aber schon im April ausgegebene Veröffentlichung veranlasst anzunehmen.

1) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. VI, 1889, S. 97.

Trotz der grossen Zahl von Desinfectionsmitteln, die wir besitzen, haben sich eigentlich nur zwei in der Praxis der Grubendesinfection gehalten: der Aetzkalk und die sogen. rohe Carbolsäure, richtiger genannt das Rohkresol.

Der Kalk wird nach den Empfehlungen Pfuhl's[1]) am zweckmässigsten in der Gestalt von Kalkmilch verwendet.

Es unterliegt nun keinem Zweifel, dass die Kalkmilch ein vorzügliches Desinfectionsmittel ist, welche, nach der Methode Pfuhl's angewandt, in den von ihm gewählten Medien eine Desinficirung mit Sicherheit herbeiführt. Trotzdem ist sie aber weit entfernt, ein Universal-Desinfectionsmittel zu sein, am allerwenigsten aber dem Grubeninhalt gegenüber.

Die ausgedehnte Anwendung, die die Kalkmilch thatsächlich in der Praxis gefunden, beruht meiner Ansicht nach auf einem Verkennen der Untersuchungen und Ergebnisse Pfuhl's. Pfuhl hat seine ersten grundlegenden Versuche an einer Grube angestellt, deren Inhalt aus Fäces bestand, und deren zugehöriges Pissoir nicht in die Grube, sondern in das Kanalnetz Berlins mündete. Solche Gruben gehören aber zu den Seltenheiten. Nur bei diesem dickbreiigen Inhalt findet durch den täglichen Nachschub diejenige Selbstbewegung in den Fäces statt, auf welche Pfuhl die Mischung mit seinem Desinfectionsmittel und damit die ganze Desinfection gründete.

Ganz anders aber sind die Verhältnisse in den gewöhnlichen Gruben, die Urin und Fäces auffangen. In solch' flüssigem Inhalt sinkt die Kalkmilch, ohne sich mit ihm zu mischen, rasch zu Boden, genau ebenso, wie dies Pfuhl selbst bei seinen Versuchen über die Desinfection von Choleraausleerungen[2]) nachgewiesen hat. Er schreibt dort: »Es war noch von Interesse, zu erfahren, ob auch die Desinfection gelingt, wenn man die Kalkmilch nur zugiesst und nicht weiter durch Vermischen nachhilft. Bei der Ausführung dieses Versuches senkte sich die Kalkmilch sehr rasch zu Boden und vermengte sich dabei nur theilweise mit

1) Zeitschr. f. Hygiene, 1889, Bd. VI u. VII u. 1893, Bd. XII. Deutsche med. Wochenschr. 1892, Nr. 39.

2) Deutsche med. Wochenschr. 1892, Nr. 39, S. 879.

dem Darminhalt. Nach einer Stunde war auch nur ein Theil der Cholerabacillen abgetödtet, nicht ihre gesammte Menge. Dies war also ein Misserfolg.«

Ein mechanisches Mischen der Kalkmilch aber mit dem Grubeninhalt durch menschliche Thätigkeit ist unmöglich, da die damit beschäftigten Arbeiter, wie ebenfalls Pfuhl erfahren musste, in kurzem Uebelkeit und Erbrechen befällt.

Ist schon aus diesem Grunde, den übrigens die Kalkmilch mit allen Grubendesinficientien, ausgenommen dem Saprol, theilt, die Anwendung der Kalkmilch bei einer Grube mit Urinfäkalgemenge geradezu zwecklos, so wird dieselbe noch fraglicher, wenn man den reichen Gehalt des Urins an Substanzen bedenkt, die sich mit Kalkydrat verbinden und so dessen Wirkung aufheben.

Nicht allein die phosphorsauren, kohlensauren und schwefelsauren fixen und flüchtigen Alkalien kommen hier in Betracht; es ist besonders in Rechnung zu ziehen, welch reichliche Kohlensäurequelle durch Zersetzung der Harnstoff, — dessen Production sich täglich pro Kopf durchschnittlich auf 40 g beläuft, — die Harnsäure und andere Harnbestandtheile darbieten, wenn ihre Lösungen nicht von Anfang an sorgfältig und vollkommen sterilisirt sind.

Weiterhin erklären diese Verhältnisse, weshalb Pfuhl angeben konnte, dass in seinen Versuchen bei dem Zusetzen der Kalkmilch ein verstärkter übler Geruch nicht auftrat[1]), eine Beobachtung, die mit den an Urinfäkalgemengen gewonnenen Erfahrungen in Widerspruch steht; es fehlte eben Pfuhl die Hauptammoniakquelle, der Urin.

Ich sehe bei dieser Beurtheilung ganz ab von der Umständlichkeit der Pfuhl'schen Desinfection, die täglich zu geschehen hat, und von der beträchtlichen Vermehrung des Grubeninhalts durch die zugesetzte Kalkmilch, wodurch eine öftere Entleerung der Gruben und dadurch erhöhte Kosten verursacht werden.[2])

1) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. VII, 1889, S. 74.

2) Wie kostspielig die Vermehrung des Grubeninhalts durch Wasserzusatz in Städten mit Abfuhrsystem werden kann, mag das Beispiel Stutt-

So bleibt uns also nach unserem heutigen Wissen und Können für die Grubendesinfection nur die rohe Carbolsäure, deren desinficirende Wirkung durch das in ihr enthaltene o-m-p-Kresol bedingt ist, dessen schwer angreifbare chemische Constitution es zu einem Grubendesinficiens ganz besonders geeignet macht, und das mit dem Phenol die günstige Eigenschaft theilt, in saurer, alkalischer oder neutraler Lösung gleich wirksam zu sein.

Die Anwendung dieses Rohkresols hat mancherlei Wandlungen erfahren. Zu Beginn der antiseptischen Zeit wurde es vielfach zur Grossdesinfection verwendet. Als dann die Kenntnis seiner Unlöslichkeit allgemeiner wurde und von einem Desinfectionsmittel verlangt wurde, dass es Sporen vernichte, trat die rohe Carbolsäure in den Hintergrund, bis man ihre Löslichmachung durch Säuren, Alkalien und Salze auffand. In den verschiedensten auf dieser Erfahrung beruhenden Gestalten wird sie nun seit geraumer Zeit zur Grubendesinfection empfohlen. Allein der Fortschritt gerade auf diesem engen Gebiete der Grubendesinfection ist nur ein scheinbarer gewesen. Zwar gelingt es mit Carbolschwefelsäurelösung, die in der Praxis ihrer sonstigen zerstörenden Wirkungen wegen nicht in Betracht kommen kann, Milzbrandsporen zu tödten, mit allen übrigen Kresollösungen aber, mit Kreolin, Lysol, Solveol und Solutol, gelingt dies nicht, in keiner praktisch anwendbaren Concentration.

Selbst bei dem in letzter Zeit mehrfach empfohlenen Rohsolutol gelang es mir nicht, Milzbrandsporen zu tödten, auch wenn sie sechs Tage in 10%iger Lösung gelegen hatten; stets gingen die Mäuse, denen ein solcher, zur Entfernung des Kresols in Alkohol vorher gereinigter Sporenseidenfaden unter die Haut geschoben worden war, an Milzbrand zu Grunde.

---

garts zeigen, wo der Hausherr für die Anbringung eines geschlossenen Closets, das durch Zugiessen von Wasser aus einer Kanne nach jedesmaligem Gebrauch gespült werden muss, jährlich 24 ℳ verlangt, die Anbringung einer Spülung mit Rohrleitung aber meist nicht gestattet, da neben der Erhöhung des Wasserzinses auch die Abfuhrkosten nach städtischem Ansatz für solch' verdünnten Grubeninhalt von 3,30 ℳ auf 4,90 ℳ pro Cubikcentimeter steigen.

Zudem hat uns das Saprol gelehrt, dass die rohe Carbolsäure zur Vernichtung der Vegetationsformen der Bakterien ohne jeglichen Zusatz in mehr als genügender Weise in Wasser löslich ist. Ich habe in meiner erwähnten Arbeit über Saprol nachgewiesen, dass bei Zusatz von 1 Saprol zu 80 Wasser 0,34% Kresol nach 24 Stunden in Lösung gegangen sind, ein Procentgehalt, der nach weiteren 1—2 Tagen bis auf 0,49 % steigt ohne jegliche Mischung in einer 0,5 m hohen Flüssigkeitssäule. Ich habe ferner gezeigt, dass man bei einem reichlichen Saprolzusatz sogar eine 2,18%ige Kresollösung erhalten kann.

Von Kahlbaum in Berlin habe ich mir nun die drei Kresole verschafft und davon gesättigte Lösungen hergestellt, in der Weise, dass das Kresol im Ueberschuss zu destillirtem Wasser zugesetzt wurde (8,0 : 200,0); die Mischung wurde unter häufigem Schütteln zum Kochen erhitzt, dann acht Tage stehen gelassen und sorgfältig filtrirt. Es resultirten opalescirende Lösungen, die beständig waren; eine Ausscheidung fand nicht mehr statt. Nach der in derselben Weise wie früher vorgenommenen Titration enthielt die gesättigte Orthokresollösung 2,75%, die Metakresollösung 2,13% und die Parakresollösung 2,47%; dass aber schon eine 0,4%ige Kresollösung genügt, um die Vegetationsformen der Bakterien rascher zu vernichten, als es die Grubendesinfection verlangt, so rasch, dass es sogar für die chirurgische Praxis genügt, ist aus der Lysolliteratur zur Genüge bekannt.

In der oben angeführten Arbeit von Anschütz ist dieser nun geneigt, dem Lysol den Vorzug vor Saprol zu geben. Betrachtet man die einzelnen durchaus exacten Versuche von Anschütz, die er mit Lysol und Saprol anstellte, daraufhin, ob sie überhaupt mit einander verglichen werden können, so erkennt man leicht, dass bei der verschiedenen Anlage derselben ein Vergleich gar nicht möglich ist. Auf der einen Seite mischt Anschütz mechanisch 50 ccm dünnflüssiger Typhus-Fäkalien mit 50 ccm 4%iger Lysollösung, auf der anderen Seite giesst er auf 50 ccm dünnbreiigen Typhusstuhls 1 ccm Saprol. Im ersten Falle war nach zehn Minuten Desinfection eingetreten, in letz-

terem nach fünf Tagen. Trotzdem diese Versuchsanordnung schon von vornherein zu Ungunsten des Saprol angelegt war, hat das Saprol doch alles geleistet, was man von einem guten Desinfectionsmittel erwarten kann; es hat ohne weitere Hilfe, ohne Mischung, die Fäkalien desinficirt.

Ich füge hier gleich an, dass ein besseres Resultat Anschütz erreicht hätte, wenn er die breiigen Fäces auf das schon vorher dem Gefäss zugesetzte Saprol gegossen hätte; ich habe auf 10 ccm Saprol 800 ccm breiiger Fäkalien in einem der von mir schon früher erwähnten Standgefässe gegossen, die Zahl der Keime betrug pro Cubikcentimeter Fäces zwischen 5 und 6 Millionen. Durch das langsam aufsteigende Saprol war dieselbe nach 24 Stunden auf 2500 Keime gesunken. Hätte Anschütz zu 50 ccm Typhusstuhl 1 ccm Lysol zugefügt und die Sache sich selbst überlassen, so wären nach fünf Tagen noch reichlich Bacterien am Leben gewesen. Denn von dem Lysol gilt genau dasselbe, wie von der Kalkmilch. Ich habe den Versuch nur an einem Cholerastuhl angestellt. Ich goss zu 80 ccm dünnflüssigen Cholerastuhls 1 ccm Lysol. Dasselbe sank sofort unter, und an den peripherischen Theilen fanden sich mittels Plattenverfahren nach fünf Tagen reichlich Fäcesbacterien und Cholerabacillen.

Noch deutlicher aber wird die Unzweckmässigkeit des Lysols, wenn man dasselbe auf Urin anwendet. Giesst man zu 80 ccm Urin 1 ccm Lysolum purum, so setzt sich ebenso wie in dem obengenannten Versuch das Lysol auf den Boden nieder; schüttelt man nun um, so entsteht eine gelbe, undurchsichtige Flüssigkeit, an deren Oberfläche sich sofort bräunliche Fettropfen zeigen, die nach 24 Stunden eine Schichte von solcher Mächtigkeit bilden, dass man den Eindruck bekommt, es sei die ganze zugesetzte Lysolmenge ausgefallen.

Fügt man mehr Lysol hinzu, so steigt auch mehr dieser öligen Schmiere in die Höhe. Die ganze Schichte erstarrt schliesslich zu einem Kuchen aus Fettsäure und Kohlenwasserstoffen, der in Aether und wässerigen Alkalien löslich ist. Diese Zersetzung beruht auf dem Gehalt des Urins an sauren Bestandtheilen (möglicherweise auch auf seinem Kalkgehalt, infolge-

dessen sich Kalkseifen bilden könnten). Der mittlere Gehalt des Urins beträgt, auf Oxalsäure berechnet, 0,3 % freier Säure. Zur Zersetzung von 10 g Lysol waren in einem Versuch 2,5 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure nöthig = 0,01575 g Oxalsäure; demnach ist der frische Harn im Stande, durchschnittlich die doppelte Menge Lysol zu zersetzen. In der ausgeschiedenen Fettsäure und den Kohlenwasserstoffen aber bleibt auch Kresol zurück, da Kohlenwasserstoffe und Fettsäuren für Kresol bessere Lösungsmittel als Wasser sind.

Es wäre also ein fundamentaler Irrthum, zu glauben, bei Zusatz einer bestimmten Menge Lysol zu einem Urinfäkalgemenge nun auch eine dementsprechende Lysolwirkung zu erwarten.

Ganz dasselbe gilt von dem von Keiler dargestellten »löslichen Saprol«, das nichts anderes als eine Art Lysol ist, und kann ich mich ersterem gegenüber vollständig auf das oben Gesagte beziehen. Es muss als ein unglücklicher Gedanke Keiler's bezeichnet werden, das Saprol durch hohen Seifenzusatz gänzlich wasserlöslich zu machen; denn ihm seine Fähigkeit, auf der Wasserschicht zu schwimmen und sich vollständig auszubreiten, nehmen und es damit unfähig zur Selbstmischung zu machen, heisst einfach den Gedanken, der das Saprol einführte, nicht verstehen.

Noch an zahlreichen anderen Stellen befinde ich mich mit der Keiler'schen Arbeit in Widerspruch, auf die ich unmöglich alle eingehen kann; ich will nur betonen, dass ich keine Veranlassung habe, auch nur ein Wort meiner ersten Arbeit in Folge der Keiler'schen Veröffentlichung zu modificiren.

Ich will davon absehen, dass Keiler bei seinen Versuchen mit Urin eine Ausscheidung des Saprols nicht bemerkte; er betont sogar, dass es sich in allen angewandten Flüssigkeiten leicht löste — das aber ist jedenfalls als eine mangelhafte Beobachtung zu bezeichnen, dass er den Auslaugungsprocess nicht wahrgenommen hat und denselben leugnet, den ausser ihm bis jetzt jeder Untersucher gesehen. Offenbar ist Keiler der Ansicht, man müsse von der schwarzen Saprolschicht schwarze oder wenigstens bräunliche Schlieren in das Wasser hinabziehen sehen.

Dem ist natürlich nicht so. Wie das Carbol, lösen sich auch die drei Kresole farblos. Nichtsdestoweniger kann man die Schlieren deutlich sehen. Es ist ein sehr instructiver, jederzeit leicht anzustellender Versuch, durch den man sich ohne weiteres Einblick in diese wichtigen Verhältnisse verschaffen kann. Man nimmt ein gefülltes Glas Wasser, taucht in die Wasseroberfläche ein Stück Zucker, oder, um es ganz sicher zu sehen, einen Krystall eines farbigen Salzes, wie Kaliumbichromat oder Kupfervitriol, ganz wenig ein und beobachtet bei durchfallendem Licht. Man ist erstaunt, zu sehen, mit welcher Schnelligkeit die ganze unter der Zuckerkante befindliche Wassersäule von gelöstem Zucker durchzogen wird; ich glaube, der Anblick dieses Versuchs, vollends verglichen mit der Art der Lösung eines Stückes Zucker auf dem Boden eines Glases Wasser, muss jeden von der Zweckmässigkeit des Saprolgedankens überzeugen.

Ganz genau dasselbe kann man auch bei Saprol beobachten, nur geht die Sache langsamer als bei Zucker vor sich. Um zahlenmässig den Effect dieses Spieles beim Saprol darzustellen, habe ich folgenden Versuch angestellt.

Es wurden zwei der in meiner ersten Arbeit beschriebenen, ½ m hohen Cylindergläser aufgestellt und mit 800 ccm Wasser gefüllt, dann wurden zu dem einen 10 ccm Saprol zugegossen und zu dem anderen 10 ccm rohe Carbolsäure. Die Titration ergab im Saprolglas nach 24 Stunden 0,415 % Kresol oben wie unten in der Flüssigkeitssäule, nach fünf Tagen 0,427 %. Im zweiten Glase, in dem die Carbolsäure in grossen Kugeln sofort zu Boden gesunken war, wies die Titration nach 24 Stunden oben 0,0388 %, unten dicht über der Carbolschicht 0,0678 % Kresol auf, nach fünf Tagen waren es unten 0,123 %. Nun stellte ich den Versuch umgekehrt an, ich goss zuerst 10 ccm Saprol, bezw. Rohcarbol, in die Standgläser und füllte dann mit 800 ccm Wasser auf. Das Saprolglas enthielt nach 24 Stunden 0,432 % Kresol gelöst, nach 120 Stunden 0,446 %, das Carbolglas unten an der günstigsten Stelle 0,0812 %, nach 120 Stunden 0,349 %. Ziehe ich die zwei Daten aus meiner früheren Arbeit heran, wonach man bei dem Verhältnis von 1 : 80 durch energisches

Schütteln aus Saprol eine 0,453%ige, aus roher Carbolsäure eine 0,5%ige Kresollösung erhält, so ist durch diese Versuche der Beweis geliefert, dass die Anwendung des Rohkresols als Saprol gleichbedeutend ist mit einer energischen Vermischung desselben mit dem zu desinficirenden Medium.

Gleichzeitig ist aus diesen Versuchen ersichtlich, dass in Folge der Aufwiegelung des zuerst eingegossenen Rohkarbols durch das nachgegossene Wasser mehr Kresol in Lösung geht, als bei umgekehrter Anwendung, ein Vortheil, der sich selbst bei dem Saprol, wenn es in dieser Weise angewendet wird, noch etwas geltend macht.

Die Besorgnisse wegen der angeblichen Feuergefährlichkeit des Saprols glaube ich in meiner ersten Arbeit hinlänglich beseitigt zu haben, viel eher müsste vor dem Gebrauch von Papier, getheerten Röhren und anderen Dingen gewarnt werden, als vor dem Saprol. Hat man doch auch früher nie gehört, als die rohe Carbolsäure unverändert vielfach im Gebrauch war, dass irgend ein Unglück durch dieselbe entstanden wäre.

Zur Erforschung der chemischen Constitution des Saprols führt Keiler mehrere Analysen an, deren Resultate geeignet sind, das grösste Misstrauen gegen seine Untersuchungen zu erwecken. Bei ein und demselben Saprol erhielt er einmal 20% Kresolgehalt, ein zweitesmal 26% und das drittemal 30%. Dabei bekommt man den Eindruck, dass diese mangelhafte Uebereinstimmung nicht einmal bemerkt worden ist.

Trotz der dunkel gehaltenen Versuchsanordnung lassen sich denn auch Fehlerquellen unschwer nachweisen.

So wurde z. B. bei der Bestimmung der Säuren die Trennung dieser von den Kresolen mittels Sodalösung vorgenommen, während wir heutzutage wissen, dass die letzteren sowohl in Sodalösung als in den Natriumsalzen der von Keiler gesuchten Säuren löslich sind. So schied Keiler nicht Säuren von Kresolen, sondern hauptsächlich Kresole von Kresolen und erhielt 16,21%! Die Unrichtigkeit dieses Resultates hätte Keiler schon aus praktischen Gründen in die Augen springen müssen; denn kein

Mensch in der Welt wird ein Theerproduct, das 16,2% der werthvollsten Säuren enthält, systematisch in den Abtritt giessen, noch viel weniger wird es zu dem Preis des Saprols zu erhalten sein. Meiner Ansicht nach können diese 16,21% Säuren beruhigt den Kresolen zugerechnet werden, ausserdem aber auch der grösste Theil des 6,37% betragenden Verlustes, mit dem Keiler arbeitete; denn dieser dürfte weniger auf den Gehalt des Saprols »an Pyridinen und Piccolinen« zurückzuführen sein, als vielmehr darauf, dass Keiler, wie es scheint, verabsäumte, seine wässrigen Lösungen mit Kochsalz oder Glaubersalz zu übersättigen, bevor er sie mit Aether ausschüttelte. So blieben nothgedrungen in den wässrigen Lösungen Kresole zurück, die seinen hohen Verlust hinlänglich erklären. Man würde also auch nach den Untersuchungen Keiler's einen Kresolgehalt von über 40% erhalten, was mit den Resultaten der übrigen Untersucher und den meinigen übereinstimmt.

Was die bacteriologischen Resultate Keiler's betrifft, so sind dieselben durchweg ausserordentlich günstig für das Saprol ausgefallen, viel günstiger als die meinigen, so dass ich bei manchen Versuchen den Verdacht nicht unterdrücken kann, es könnte Entwickelungshemmung im Spiele gewesen sein, dadurch, dass etwas Saprol in den Nährboden gelangte, was bei der physikalischen Eigenschaft desselben, oben eine stets geschlossene Decke zu bilden, sehr leicht möglich ist. Die Versuche VII—XV weisen alle vortreffliche Resultate auf. Bei 1% Saprolzusatz wurden Typhus- und Cholerabacillen prompt in 2—3 Stunden vernichtet, ohne jede mechanische Mischung, ein Resultat, wie es kein anderes Desinfectionsmittel aufzuweisen vermöchte! Ein Urinfäkalgemenge (3:2) erwies sich nach 24 Stunden steril! Keiler entschuldigte diesen günstigen Erfolg mit der relativ grossen Urinmenge, was für die Praxis nicht stichhaltig ist, da der Mensch durchschnittlich 150 ccm Fäces und 1500 Urin täglich entleert, also in einer Grube, die Urin und Fäces auffängt, ersterer an Menge weit überwiegt, und das Gemisch noch dünnflüssiger ist, als das in dem Keiler'schen Versuche. Ich habe solch hervorragende Resultate nicht erhalten.

Dass aber geformte dickbreiige Fäkalien durch aufgegossenes Saprol in ihrer ganzen Masse nicht desinficirt werden (Versuch XVI), ist nicht verwunderlich; mir ist bis jetzt kein Antisepticum bekannt, das dies ohne Mischung und Wasserzusatz vermöchte. Trotzdem hätte Keiler nach meinem obigen Versuch noch am meisten Aussicht auf Erfolg bei dem Saprol gehabt, wenn er die dickbreiigen Massen dem am Boden befindlichen Saprol zugefügt hätte.

Warum nach diesen vortrefflichen Resultaten Keiler das Saprol verseifte, ist mir, wie gesagt, nicht erklärlich. Er wusste ja, dass das Saprol eine Lösung von roher Carbolsäure in indifferenten Kohlenwasserstoffen ist; für den von ihm gewollten Zweck ist also die Nocht'sche Carbolseifenlösung viel zweckmässiger, die auch bei Mischung mit Urin nicht wie Lysol und sein »gelöstes Saprol« ausfällt; warum denn die Fäkalien mit den für die Bacterientödtung ganz unnöthigen Kohlenwasserstoffen belasten! — Merkwürdiger Weise wird das »gelöste« Saprol nun ein auffallend mächtiges Desinfectionsmittel, so dass nach Versuch XX eine Choleraaufschwemmung durch 0,3% Saprol — nach der Keiler'schen Analyse also durch 0,06—0,09% Kresol; thatsächlich ca. 0,13% — in 7 Minuten sterilisirt wurde; ich habe den Versuch nachgemacht und noch nach 15 Minuten Choleracolonien erhalten.

Schon Ende October 1892 hatte mir die Fabrik von Dr. Nördlinger eine Probe, bezeichnet Saprol R, zu Versuchszwecken zugeschickt, die einem ähnlichen Gedanken, wie dem Keiler'schen, ihren Ursprung verdankte, aber sinngemässer angefertigt war. Durch einen Zusatz von 3—4% Seife war der mit dem anderen Saprol sonst vollständig übereinstimmenden Substanz die Fähigkeit gegeben worden, rascher in Wasser sich auszulaugen, ohne doch, wie das Keiler'sche Saprol, die fundamentale Eigenschaft, sich auf dem Wasser auszubreiten, verloren zu haben. Ich halte diesen Zusatz für ganz und gar unzweckmässig; denn die Auslaugung des Saprols geht schnell genug vor sich, und ein höherer Procentgehalt des Grubeninhalts an Kresol ist vollständig über-

flüssig, wird auch in Folge der erwähnten Zersetzung der Seife gar nicht erreicht.

Ich habe also nachgewiesen, dass nach 24 Stunden bei Zusatz von 1 Saprol zu 80 Flüssigkeit letztere in eine 0,4%ige Kresollösung umgewandelt wird, dass dieselbe in weiteren 1 bis 3 Tagen bis auf einen 0,5%igen Kresolgehalt steigt; habe ferner gezeigt, dass nach dem genannten Saprolzusatz die unter dem selben stehende Flüssigkeitssäule nach 6—24 Stunden bezüglich der vegetativen Bacterienformen sterilisirt ist, und dass die nunmehr hinzutretenden Bacterien innerhalb einer Stunde vernichtet werden.

Ich bin der Ueberzeugung, dass solch günstige Verhältnisse bis jetzt noch bei keiner Methode der Grubendesinfection erreicht worden sind, ganz abgesehen von der angenehmen Nebenbeigabe der sofortigen Desodorisation und der ausserordentlichen Einfachheit der Methode, bei der man zur Desinfection nahezu an keine Zeit gebunden ist.

Am zweckmässigsten wird dieselbe sich so gestalten, dass nach jeder Leerung der Grube 1½% des Cubikinhalts der Grube an Saprol zugesetzt wird, nachdem zur Ausgleichung der Oberfläche und zur Vermeidung einer eventuellen Adhäsion des Saprols am Boden genügend Wasser hinzugefügt worden ist. Die Gründe, die mich zu diesem Vorschlag bestimmen, sind aus vorstehenden Ausführungen ersichtlich; auch glaube ich, dass meine Laboratoriumsversuche auf so breiter Basis angelegt worden sind, dass sie einen Schluss auf die Praxis berechtigen.

Nachtrag.

Während der Correctur erhalte ich die Arbeit von A. Pfuhl, „Zur Wirkung des Saprols"[1]), in welcher meiner ersten Veröffentlichung über diesen Gegenstand mehrfach Erwähnung gethan wird. Da verschiedene Angaben A. Pfuhl's der Richtigstellung bedürfen, muss ich mit einigen Worten auf dieselben eingehen.

Gleich bei Beginn seiner Arbeit betont A. Pfuhl, dass sich seine Untersuchungsergebnisse nicht in allen Punkten mit den

1) Zeitschr. f. Hygiene, 1893, Bd. XV, S. 192.

meinigen decken; das ist nicht richtig. Wo A. Pfuhl mit den meinigen ähnliche Untersuchungen anstellte, wo es also überhaupt möglich war, dass die Resultate sich deckten, da stimmten die Ergebnisse auch voll und ganz überein: frischer Urin faulte nicht; flüssige Fäcalien wurden in ihrem Bacteriengehalt stark herabgesetzt, aber nicht sterilisirt; die Vegetationsformen der Bacterien, Typhus- und Cholerabacillen wurden nach 24 Stunden, wenn nachgesehen wurde, auch schon früher vernichtet vorgefunden; in beiden Arbeiten vollkommene Uebereinstimmung!

Wenn A. Pfuhl Untersuchungen über die Wirkung des Saprols auf consistente Fäces anstellt und dabei findet, dass dessen Wirkung sich nicht von der anderer Desinfectionsmittel unterscheidet, so steht das mit meinen Untersuchungsergebnissen in keiner Beziehung; denn ich habe derartige Versuche nicht angestellt, weil ich überhaupt eine solche Anwendung von vornherein für ein Unding halte bei einem Mittel, das lediglich ersonnen wurde, um auf der Oberfläche zu schwimmen und von hier aus zu wirken.

Demnach entbehrt auch der A. Pfuhl'sche Satz: „ob die Ursache der genannten Differenzen in der chemischen Beschaffenheit der betreffenden Präparate zu suchen ist, vermag ich nicht zu entscheiden, da mir das zur Zeit von der Fabrik gelieferte Saprol nicht bekannt ist“, jeder Berechtigung. Denn Differenzen haben in unseren Versuchen nicht bestanden, und keinen einzigen meiner Versuche kann A. Pfuhl mir nachweisen, bei dem nicht die von ihm in seinen Versuchen gefundene Desinfectionskraft seines Saprols auch im Stande wäre, den von mir in meinen Versuchen erreichten Effect zu erzielen. Ich kann also diesen Satz mir nur durch die Tendenz erklären, meine Untersuchungen als irgendwie fehlerhaft zu verdächtigen. Meinem Gefühl nach wäre derselbe besser ungedruckt geblieben.

Zudem geht aus meiner Arbeit deutlich hervor, dass ich bereits im Sommersemester 1892, also gleichzeitig mit A. Pfuhl, über Saprol arbeitete und mich nur dadurch von ihm unterschied, dass ich von den Vorversuchen, wofür ich übrigens die sämmtlichen Versuche der Pfuhl'schen Publikation halten muss, zu

genaueren Untersuchungen überging, um zu erfahren, was denn eigentlich die antiseptische Wirksamkeit des Saprols bedinge.

Zweifellos haben wir also dasselbe Saprol in Händen gehabt, wie ja auch das Pfuhl'sche Saprol mit dem anderer Untersucher übereinstimmt, so genau, dass sogar die ganzen Analysen wörtlich gleichlauten, wenigstens habe ich die seinige in der Pharmaceutischen Centralhalle vom 26. Mai 1892 S. 305 längst gelesen. Die „chemische Seite" Pfuhl's scheint sich die „damalige chemische Analyse" doch etwas leicht gemacht zu haben.

Pfuhl selbst stimmt übrigens mit seiner „chemischen Seite" keineswegs immer überein. Diese meint, dass das Saprol nur „höchst geringe Mengen" an Wasser abgibt, während ihm eine „verhältnismässig rasche Mengenabnahme" auffällt. Ich glaube, dass von mir ganz richtig gehandelt war, zur Vermeidung solcher Widersprüche mich der Mühe zu unterziehen, die vorhandenen „Schwierigkeiten" zu überwinden und „die wahren Concentrationsverhältnisse mit voller Schärfe zu ermitteln". Dass A. Pfuhl hierzu sich ausser Stand fühlte, bedauere ich, es wird nach den sonstigen, an seiner Arbeit gemachten chemischen Erfahrungen aber Niemand Wunder nehmen.

Am Ende seiner Veröffentlichung kommt A. Pfuhl nun zu dem Schluss — und hierin deckt er sich nicht mit mir —, „weil das Saprol in festweichen Substraten nicht genügend in die Tiefe dringe, bedürfe es der mechanischen Vertheilung, sei also zu einer völligen Desinfection von Senkgruben nicht geeignet und besitze keinen grösseren Werth als die bisher zu diesem Zweck benützten Antiseptika".

Nun gut! also den gleichen Werth wie die übrigen Grubendesinficientien hat das Saprol festweichen Massen gegenüber, es steht ihnen in diesem Punkt weder nach noch vor, das ist auch meine Ansicht. Bei dünnbreiigen und flüssigen Massen aber hat es einen ganz bedeutenden Vorzug und lässt alle anderen Desinfectionsmittel weit hinter sich, wie ich glaube, jetzt zur Genüge bewiesen zu haben und wogegen auch A. Pfuhl allem Anschein nach nichts einzuwenden hat.

Nun beruht aber die Annahme, dass Grubeninhalt „festweich" sei, auf einem Irrthum. Das ist er nur in Anlagen mit Diviseurs oder mit ähnlichen Einrichtungen und in schlecht gemauerten, durchlässigen Gruben; erstere sind selten und principiell heute verlassen; letztere dürfen überhaupt nicht vorkommen.

Der gewöhnliche Grubeninhalt, der aus dem gesammten Abgang von Urin und Fäces besteht, ist flüssig bzw. dünnbreiig und bildet eine ebene Oberfläche, wie ich mich an den Gruben Stuttgarts zur Genüge habe überzeugen können. Zu einer Desinfection solcher Gruben ist das Saprol also sehr „geeignet", weil es einer „mechanischen Vertheilung" nicht bedarf.

Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot.

Von

Prof. Dr. K. B. Lehmann.

III. Qualitative und quantitative Untersuchungen über den Säuregehalt des Brotes.

(Aus dem hygienischen Institute in Würzburg.)

I. Einleitung und Literatur der Frage.

Meines Wissens haben die Säuren des Brotes bisher noch nie eine eingehendere chemische und hygienische Untersuchung erfahren, und weder über die Art noch die Menge der in verschiedenen Broten enthaltenen Säuren ist Hinreichendes festgestellt.

Die Literatur dieser Frage ist sehr klein, mir ist nur Folgendes über die Säuren von Mehl und Brot bekannt geworden.

v. Bibra gibt (a. a. O. S. 164) an, er habe bei feinem Weizenmehl sowohl frisch als nach ³/₄ jährigem Aufbewahren im Wasserauszug keine Säure finden können und habe das Gleiche an mehreren anderen feinen käuflichen Weizenmehlen gefunden, mochten sie jung oder alt sein. Mittelmehl desselben Weizens ergab dagegen eine schwachsaure Reaction, desgleichen bei Mais und Roggenmehl, noch deutlicher bei Hafermehl. Dreitägiges Stehen vermehrte den Säuregehalt der Auszüge nicht. Quantitative Angaben fehlen.

In neuer Zeit hat Traugott Günther[1]) eine — mir bis vor ganz kurzem unbekannt gebliebene — eingehendere Arbeit über

1) Traugott Günther: in Mittheilungen aus dem pharmaceutischen Institute und Laboratorium für angewandte Chemie der Universität Erlangen. Herausgegeben von A. Hilger, Heft II, S. 13, 1889.

die Säuren des Mehles publicirt, er fand in zwei Roggenmehlen für 100 g 1,4 und 0,55 ccm Normalalkali zur Neutralisirung (Indicator Phenolphthaleïn), für 3 Weizenmehle 0,2, 0,2 und 0,25 Normalalkali. Günther wendete nur 2 g Mehl in 250 ccm kohlensäurefreiem destillirtem Wasser suspendirt an und titrirte mit 1/100 Normalbarytwasser. — Ein Versuch, in dem er den Alkoholextract von 2 g Mehl mit kohlensäurefreiem Wasser auf 250 auffüllte, ergab etwas niederere Werthe; einen bewussten Unterschied in der Verwendung der verschiedenen Indicatoren scheint Günther nicht gemacht zu haben. Durch einige Versuche wurde gefunden, dass ein relativ kleiner Theil der Säure nicht flüchtig ist — etwa 1/5—1/7 der Gesammtsäure.

Die saure Reaction wurde von Günther auf freie Säuren bezogen und von solchen Milchsäure und Ameisensäure nachgewiesen; bemerkenswerth ist, dass er keine Essigsäure gefunden oder gesucht hat. Die Milchsäure ist durch die Krystallform des Zinklactats und den beim Erwärmen des letzteren mit Schwefelsäure auftretenden Geruch charakterisirt, die Ameisensäure durch Silberreduction.

Ueber den Säuregehalt des Brotes kennt v. Bibra nur 2 Arbeiten. Einmal citirt er eine Arbeit von Graeger über die Bedeutung der Dauer der Gärung auf den Säuregehalt des Brotes. Zwei Teigproben aus dem gleichen Roggenmehl in gleicher Weise bereitet, wurden die eine 4, die andere 8 Stunden gären gelassen. 100 g frischen Brotes ergaben bei der Titrirung mit Ammoniak 0,267 % und 0,411 % Säure auf Essigsäure berechnet, durch den Geschmack war kein Unterschied wahrzunehmen. Abgesehen vom verschiedenen Säuregehalt verhielten sich die beiden Brote ganz gleich und blieben auch gleichlang frisch. — Dass 2 Brote mit einem Verbrauch von 4,45 und 6,85 ccm Normalalkali pro 100 Brot keine sehr starke Geschmacksdifferenz darboten, ist leicht verständlich.

Zweitens berichtet er über die seitdem vielfach citirte Arbeit von Franz Keller.[1])

Franz Keller ist meines Wissens der einzige, der bisher über die Säure des Schwarzbrotes etwas Näheres ermittelte. Er

engte die durch Destillation eines Infuses von getrockneten Brotscheiben erhaltene Flüssigkeit nach Neutralisiren mit Natriumcarbonat ein, erkannte das Aussehen der erhaltenen Krystalle als das des Natriumacetats und erhielt im Mittel aus 2 Versuchen 65,11 % Silber (nicht Silberoxyd) aus dem Silbersalz. Hierzu bemerkt Keller: »Die Poren des frischgebackenen Brotes sind sonach mit einer dünnen Schicht des bei der Gärung entstandenen Weingeistes ausgekleidet, der sich sehr bald in jene Säure verwandelt«.[2]) — Essigsaures Silber enthält theoretisch 64,60 % Silber. Im Destillationsrückstand wurde keine Milchsäure gefunden; ob derselbe überhaupt noch Säuren enthielt, ist nicht gesagt.

Auch quantitative Angaben über Brotacidität sind nur wenige in der Literatur aufzufinden.

Elsner (Die Praxis des Chemikers, IV. Aufl., 1889) gibt über den Säuregehalt des Brotes (worunter er nach einer wenige Zeilen weiter oben angeführten Definition nur »das tägliche Schwarz- und Weissbrot« mit Ausschluss von Pumpernickel versteht) an: »Die Säuerung (des Teiges) schreitet um so weiter vorwärts, je länger die Gärung hingehalten wird, und beträgt etwa so viel, dass die in 100 g Brot enthaltene Säuremenge 0,9—0,13 g Ammoniak zur Sättigung bedürfen würde«. Da 1 ccm Normallauge 0,017 g Ammoniak äquivalent ist, so bedeutet dies 53—7,6 ccm Normallauge für 100 g offenbar frischen und nicht getrockneten Brotes. Es ist mir hier ein Druckfehler wahrscheinlich. Es soll wohl heissen 0,09—0,13 Ammoniak, also 5,3—7,6 ccm Normallauge für 100 g frisches Brot.

Nach Abschluss meiner Arbeit fand ich noch einige englische Angaben[3]): Gutes frisches Brot in Netley enthielt 0,054 und

1) Franz Keller in Buchner's Repertorium für Pharmacie, III. Reihe, Bd. IV, 1850, S. 336.

2) Dass diese Erklärung des Essigsäuregehalts falsch ist, geht unter anderem aus besonderen Versuchen des Herrn A. Wolffin in meinem Institut hervor. Die Bildung der Essigsäure findet nicht aus Alkohol, sondern aus den Kohlehydraten direct statt. Eine ausführliche Arbeit des Herrn Wolffin über die Entstehung der Brotsäure steht bevor.

3) Parkes-Notter, A Manual of practical Hygiene, Eighth edition. London 1891. Die Angaben sind grossentheils geschöpft aus den mir unzugänglichen: Army medical Reports, XVIII, p. 222.

0,055 % Säure als wasserfreie Essigsäure ausgedrückt, eine mittelmässige schlecht ausgebackene Probe 0,072, drei als minderwerthig zu bezeichnende Sorten 0,085, 0,088 und 0,104 %. Bei einer anderen Gelegenheit lieferten zwei ziemlich gute Proben 0,102 und 0,12 %, zwei andere 0,084 und 0,090, eine als sauer beurtheilte Probe enthielt 0,18 % — jedenfalls sollte 0,114 % die Grenze sein. Zwei ausgezeichnete Brote von Aldershot zeigten 0,06 und 0,078 %; bei diesen beiden letzten Angaben ist ausdrücklich bemerkt, dass sie sich auf die Krume beziehen. Die Werthe sind durch Titriren gewonnen, aber über den Indicator ist nichts bemerkt. — Nach englischen Begriffen erschiene demnach ein Brot sauer, wenn es für 100 g mehr als 2 ccm Normallauge zur Neutralisirung braucht!

Auch in König's grossem Werke[1]) stehen einige vereinzelte Zahlen, so fand J. Nessler in frischem Brote folgenden Säuregehalt — als Milchsäure berechnet. Ich habe in Klammer neben jede Zahl die Cubikcentimeter Normallauge gesetzt, die dem Milchsäuregehalt entspricht:

Zwieback	Weck	Milchbrot	Schwarzbrot
0,09 % (1)	0,10 % (1,1)	0,11 % (1,2)	0,14 % (1,55).

Der Säuregehalt soll beim Aufbewahren zunehmen und nach fünf Tagen betragen:

0,52 % (5,8)	0,23 % (2,5)	0,27 % (3,0)	0,25 % (2,8).

Ich bemerke hier gleich vorweg, dass ich in einigen Versuchen beim Aufbewahren von Brot keine Steigerung des Säuregehalts beobachten konnte — eingehender habe ich diese Frage nicht untersucht — ausserdem fällt mir besonders der sehr geringe Unterschied im Säuregehalt der Semmel und des Schwarzbrotes auf.

Popoff[2]) fand in russischem Brote (Mittel aus 26 Proben aus verschiedenen Gegenden):

1) König, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel, 3. Aufl., Berlin, Bd. II, S. 615.

2) Nach Zeitschrift für angewandte Chemie, 1888, S. 476. Das Original Moniteur scientifique, 1888, p. 826 war mir unzugänglich.

Weizenbrot	0,16 %	Säure
Feinstes Weizenbrot . . .	0,20 %	„
Gröberes Weizenbrot . . .	0,65 %	„
Städtisches Roggenbrot . .	0,62 %	„
Ländliches Roggenbrot . .	1,01 %	„

Neuestens enthält eine Arbeit von Weibull[1]) einige Angaben. In mit Wasser bereitetem Brot findet Weibull 0,1—0,15% Säure nach Balland's Methode bestimmt und als Schwefelsäure berechnet. Es würde dies 2,5—3,75 ccm Normalsäure in 100 Brot bedeuten. In mit Milch bereitetem Brot wurde der Säuregehalt zu 0,2% bestimmt, d. h. 100 Brot enthalten 5 ccm Normalsäure. Es scheint Hefebrot gemeint zu sein.

2. Die Natur der Brotsäuren, ihre qualitative und quantitative Bestimmung.

Ich berichte nun zuerst über meine Untersuchungen nach der Natur der Brotsäuren, obwohl die statistischen Erhebungen über die Säuremenge in den deutschen Broten vielfach vorhergingen und leider noch nicht durchweg von der Erkenntnis Nutzen zogen, die aus den eingehenderen hier mitgetheilten Studien erwuchs. An verschiedenen Stellen werde ich noch auf einzelne Lücken meiner Untersuchung hinzuweisen haben, glaubte aber mit der Publication des vorliegenden Materials nicht mehr bis zur Ausfüllung derselben zögern zu sollen. Es ist bei einiger Ueberlegung ohne weiteres klar, dass mindestens zwei verschiedene Substanzen die saure Reaction des Brotes bedingen müssen. Erstens freie organische Säure, die man riecht und abdestilliren kann, und zweitens saures phosphorsaures Kali, entstanden durch die chemische Umsetzung von bei der Gährung neu entstandener organischer Säure mit den im Mehl präexistirenden neutralen Phosphaten.

Dass die Phosphorsäure als neutrales Phosphat in dem Getreide enthalten ist, geht aus folgender Rechnung hervor.

1) Weibull, Chem. Zeit. 1893, S. 502.

Nach Wolff enthalten 100 g Roggen an Asche:

K_2O	= 0,671	P_2O_5	= 0,998
Na_2O	= 0,031	SO_3	= 0,0270
CaO	= 0,062	SiO_2	= 0,0290
MgO	= 0,235	Cl	= 0,010
FeO	= 0,026		

Berechnen wir, wieviel P_2O_5 nöthig ist, um alle vorhandenen Basen als neutrale Phosphate zu binden, so finden wir:

Das Chlor braucht 8 mg Na_2O, bleiben für P_2O_5 noch 23 mg übrig.

Die Schwefelsäure braucht 19 mg CaO, bleiben für P_2O_5 noch 48 mg übrig.

Die Kieselsäure dürfte grossentheils nicht an Basen gebunden sein.

Die nicht von Chlor und Schwefelsäure gesättigten Basen verlangen an Phosphorsäure zur Bildung von neutralem Phosphat:

0,671	K_2O	braucht	0,507 P_2O_5
0,023	Na_2O		0,026
0,235	MgO		0,415
0,043	CaO		0,054
0,026	FeO		0,029
			1,031

Es genügen also die vorhandenen Basen, um 1031 mg und nicht nur 997 mg Phosphorsäure zu neutralem Phosphat zu sättigen, resp. es sind etwa 3% Basen mehr da, als nach meiner Annahme nothwendig ist. Eine genauere Uebereinstimmung ist keinenfalls zu erwarten, da wir über die in organischer Bindung befindlichen Phosphorsäure (Nuclëin) und Alkalimengen (Salze organischer Säuren, Albuminate) nichts wissen und auch nicht wissen, wieviel von der aufgeführten SO_3 erst beim Veraschen entstanden ist.

Jedenfalls ist die Annahme einer Bindung als Monokaliumphosphat etc. ausgeschlossen, es sind dazu viel zu viel Basen vorhanden. Ebensowenig ist die Anwesenheit grösserer Mengen von basischen Salzen möglich; selbst unter der Annahme, dass

aller Schwefel in Form von Eiweiss vorhanden ist, und keine Alkalibindung an organische Säuren und Eiweiss stattfindet, reichen die Basen dazu bei weitem nicht aus. Wäre K_2O und MgO mit Phosphorsäure zu basischen Salzen verbunden, so blieben für die kleinen Mengen Kalk, Natrium und Eisen noch 384 mg P_2O_5 zu sättigen.

Sehr gut stimmt zu diesen Beobachtungen die geringe Acidität, die sich beim directen Titriren des Mehles zeigt. Meine an 50 g Mehl mit 1/4 Normalnatronlauge und Phenolphthaleïn gewonnenen Werthe stimmen vollkommen mit den oben erwähnten Angaben Günther's

Tabelle I.

Es enthalten 100 g Mehl eine Acidität entsprechend	ccm Normal-säure
Roggenmehl v. H. in Stettin (auf 12 Centner Roggen [N 0 und N 1 a] 2 Centner Weizen N 00)	1,1
Roggenmehl v. R. in Stettin (N 0 und N 1 a)	0,5
Roggenmehl v. M. in Stettin (auf 8 Centner Roggen [N 0 und N 1 a] 4 Centner Weizen N 00)	0,6
Mehle aus 18 Centner Roggen + 2 Centner Weizen gemahlen (Stettin St.):	
Mehl α (Mehl 0 und Mehl 1 a)	0,6
Mehl β (Mehl 0 zu 1/4, Mehl 1 zu 1/4, Mehl 2 zu 1/2)	0,72
Mehl γ (Mehl 2)	1,5
Roggenschrot	1,1

Dass sich die bei der Sauerteiggährung entstehenden Säuren (Essigsäure, Milchsäure u. s. f. siehe unten) mit dem Dikaliumphosphat theilweise in Monophosphat umsetzen müssen bedarf keines weiteren Beweises.

Leider bedingt das Entstehen von sauren Phosphaten gewisse Schwierigkeiten für die Titrirung. Saures Kaliumphosphat (KH_2PO_4) reagirt bekanntlich sauer, neutrales Kaliumphosphat (K_2HPO_4) alkalisch gegen Lackmus, Gemische dieser beiden Substanzen reagiren sauer, wenn viel KH_2PO_4 neben wenig K_2HPO_4 vorhanden ist, dann folgt ein Stadium der amphichromatischen Reaction und endlich tritt alkalische Reaction ein, noch ehe das ganze KH_2PO_4 in K_2HPO_4 verwandelt ist.

Beispiel: 1,36 g selbstbereitetes KH_2PO_4 wird in 100 ccm Wasser gelöst. Hiervon werden 10 ccm mit 1/4 Normalnatronlauge titrirt. Zur vollständigen Umwandlung von 0,136 g KH_2PO_4 in K_2HPO_4 sind 0,056 g KOH, d. h. gerade 1 ccm Normallauge oder 4 ccm 1/4 Normallauge nothwendig.

Zugesetzte Alkalienmenge	Reaction auf	
	Bläulichem Lackmus-Papier	Röthlichem Lackmus Papier
0,5	roth	roth
1,0	roth	von Wasser nicht unterscheidbar
1,5	nur wenig röther als durch destillirtes Wasser	Spur lila
2,0	Spur röther als Wasser	merklich lila
3,5	röthlich wie durch dest. Wasser	deutlich bläulich
3,0	bläulich	bläulich
3,5	blau	blau
4,0	kräftig blau	kräftig blau

Diese Titrirungen erheischen gute Tagesbeleuchtung, höchste Aufmerksamkeit, fortwährenden Vergleich mit der Reagenspapierverfärbung, die destillirtes Wasser hervorbringt, und doch liefern sie kein genaues Resultat [1]), da stets vor der vollständigen Dikaliumphosphatbildung eine bleibende bläuliche Farbe des rothen und blauen Lackmuspapieres auftritt.

Adolf Ott [2]) erkannte, dass im Bier u. s. f. die Acidität von sauren Phosphaten neben freien Säuren herrühre und schlug vor, zu ermitteln, wie viel Natronlauge nöthig sei, um auf rothem Lackmuspapier den Anfang einer Bläuung zu geben, sodann wie viel weitere Natronlauge zugesetzt werden müsse, um eine Reaction zu erhalten, bei der das blaue Papier blau bleibe. Die erstere Zahl sollte der freien Säure, die letztere den sauren Phosphaten entsprechen. Es ist dieser Vorschlag aber nicht geeignet, genaue Resultate zu liefern, denn obiges Beispiel zeigt, dass man zu reinen Monokaliumphosphatlösungen etwas Natronlauge setzen kann, ohne dass sich das rothe Papier bläut — diese Thatsache

1) Ich muss anführen, dass nicht jedesmal trotz sorgfältiger Arbeit eine amphichromatische Reaction beobachtet wurde. Mehrfach behielt blaues Lackmuspapier seine blaue Farbe schon, wenn rothes Lackmuspapier sich noch nicht bläute, so dass umgekehrt wie in dem obigen Beispiel die bläuliche Färbung des rothen Lackmuspapiers und nicht das Blaubleiben des blauen Papiers die Endreaction anzudeuten schien. Es ist hieran zum Theil jedenfalls auch die verschiedene Empfindlichkeit der einzelnen Lackmuspapiere Schuld. Ich habe desshalb immer die Alkalizahl als richtige »Lackmuszahl« angesehen, bei der blaues und rothes Papier nach dem Betupfen schwach blau war.

2) Adolf Ott, Zeitschrift für das gesammte Brauwesen. 1884, S. 321.

müsste freie Säure vertäuschen, und zweitens tritt Blaubleiben des blauen Papieres ein, ehe alles Monokaliumphosphat in Dikaliumphosphat verwandelt ist — wir würden also aus zwei Gründen zu wenig Monokaliumphosphat finden.

Wie ich nachträglich sehe, hat Dr. E. Prior in einer sehr interessanten von mir erst nach Abschluss meiner Arbeit näher beachteten Arbeit [1]) eine ganz ähnliche Kritik an Ott's Methode geübt (l. c. S. 25).

Ich suchte bei dieser Sachlage nach einem Indicator, der die Gesammtsäure, d. h. freie Säure und saure Phosphate gemeinsam scharf zu bestimmen gestatte. Derselbe sollte einen Farbenumschlag zeigen, wenn alle freien Säuren gesättigt und die sauren Phosphate in neutrale — zugleich auch für unseren Geschmack nicht mehr saure Verbindungen — verwandelt wären.

Nach Soxhlet und Henkel's Studien über die Titrirung der Milch durfte man im Phenolphtaleïn (1 % g alkoholisch) erwarten, dass es allen Anforderungen entspreche. Folgende Versuche beweisen dies:

1. Eine Lösung von Na_2HPO_4 0,179 g in 5 ccm Wasser färbt sich deutlich violettroth mit Phenolphthaleïn. Zusatz von 0,05 ccm $^1/_4$ Normal-Schwefelsäure entfärbt, Zusatz von 0,05 ccm $^1/_4$ Normalnatron stellt die Farbe wieder her.

2. Es wurden 10 ccm einer Lösung von KH_2PO_4 enthaltend 0,136 g KH_2PO_4 mit Phenolphthaleïn titrirt.

Bei 3,9 ccm $^1/_4$ Normalnatron noch farblos.

Bei 4,0 ccm deutliche Violettfärbung, d. h. auf Zusatz der theoretisch geforderten Menge. Dabei zeigte sich zum erstenmal, dass man nicht zu wenig von der Phenolphthaleïnlösung zusetzen soll.

In einigen Versuchen fand ich

mit 1 Tröpfchen Phenolphthaleïnlösung 4,1 ccm $^1/_4$ Normalnatronlauge
» 3 Tropfen » 4,0 » » »

3. 2 g KH_2PO_4 brauchten 14,7 ccm Normalnatronlauge bis zur Violettfärbung des Phenolphthaleïns, theoretisch waren 14,5 nöthig.

Es fragt sich nun, ob im Brote nicht vielleicht Substanzen vorhanden sind, die eine Anwendung von Phenolphtaleïn ausschliessen. Bekanntlich ist Ammoniak eine solche Substanz —

1) E. Prior, Bericht über die zehnte Versammlung der Bayerischen Vertreter der angewandten Chemie in Augsburg. Wiesbaden 1892, S. 22: Ueber die Säuren im Biere und deren Bestimmung.

Brot enthält davon sehr geringe Mengen [1]). Es schien möglich, dass Stärke, Zucker, Gummi und Eiweiss ungünstig einwirkten. Besondere Versuche zeigten, dass diese Bedenken unbegründet waren, resp. dass Säurelösungen unter Zusatz obiger Stoffe genau die gleiche Alkalimenge bis zum Eintritt der Phenolphtaleïnreaction gebrauchten, wie ohne dieselben.[2])

Damit war entschieden, dass die Bestimmung der Brotsäure einfach durch Titrirung des zu Brei erweichten Brotes gemacht werden dürfe, dass ein Abfiltriren oder dergleichen nicht nothwendig sei. Die Anfertigung von Wasserauszügen durch Extraction und Filtration hat den grossen Nachtheil, dass eine absolut vollkommene Erschöpfung der Brotsäuren fast unmöglich, eine klare Filtration der Auszüge sehr zeitraubend ist.

Die Untersuchung wurde im Einzelnen so ausgeführt: Zwei Proben von 50 g Brot, in dem Zustande, wie es gerade vorlag, wurden rindenfrei abgewogen, gerieben oder fein zerpflückt, in je einem Becherglase mit ca. 150—200 ccm siedenden Wassers übergossen, mit einer Glasplatte bedeckt, abkühlen gelassen und dann möglichst kühl (ev. im Eisschrank) mehrere Stunden (bis 24 Stunden) stehen gelassen. Dann wurden die Proben kräftig durchgerührt, zerquetscht u. s. f. und erst mit Lackmuspapier bis zur bleibenden bläulichen Reaction beider Papiere, hierauf unter Zusatz von reichlich (2—3 ccm) zweiprocentiger Phenolphtaleïnlösung bis zu bleibender schwacher Rosafarbe titrirt. Die Titrirung ist insoferne eine Geduldsprobe, als ziemlich langsam nur der gesuchte Farbenwechsel bleibend wird, reichliches Umrühren, gelegentlich auch Zuwarten, während der Deckel wieder aufgelegt wird, ist nothwendig, um der Lauge Zeit zu geben, in's Innere der Brotbröckchen einzudringen [3]). Die Uebereinstimmung der stets ausgeführten Controlbestimmungen

1) Nach den Untersuchungen meines Schülers Eugen Welte enthält 100 g Brot etwa 25 mg Ammoniak nach der Methode von Schlösing.

2) Dagegen reagirt ein wässeriger Brotauszug nicht blau mit Kongoroth, vortrefflich dagegen das Destillat desselben.

3) Am besten zerreibt man vor der Titrirung den Brotbrei fein in einer Porzellanreibschale, ich habe es in allen späteren Versuchen so gemacht.

war durchweg vollkommen genügend. Eine Wasserbestimmung, die stets gleichzeitig vorgenommen wurde, gestattet Umrechnung auf Trockensubstanz.

Da der Wassergehalt der Brote meist nur zwischen 35 und 45 % in der Krume schwankt, so habe ich in meinen vorläufigen Mittheilungen den Säuregehalt stets auf frische Substanz bezogen: Ein Brot hat so viele Säuregrade, als Cubikcentimeter Normalnatronlauge zur Titrirung von 100 g frischer Krume unter Anwendung von Phenolphtaleïn als Indicator nöthig sind.

Genauer werden die Resultate natürlich, wenn man sie auf Trockensubstanz bezieht; ich habe für meine Tabellen auch diese Umrechnung vorgenommen, für practische Zwecke und wenn annähernd frische Brote vorliegen, kommen wir dagegen wohl mit der obigen Bezeichnungsweise aus. Anders wird die Sache natürlich, wenn die Acidität von Mehl oder Zwieback mit der von Brot verglichen werden soll.

Ich komme zu den Untersuchungen über die einzelnen Säuren im Brote.

Nach den obigen Ueberlegungen durfte man hoffen, durch Wasser oder verdünnten Alkohol dem Brote seinen Säuregehalt (freie organische Säuren und Monokaliumphosphat) vollkommen entziehen zu können, vorausgesetzt, dass nicht neben Essigsäure eine in Wasser unlösliche organische Säure vorhanden, und dass nicht etwa ein Theil der Säure an Eiweisskörper gebunden war.

Die Versuche ergaben, dass in der That ein sehr grosser Theil, bei geduldigem, lange fortgesetztem Ausziehen der allergrösste Theil der Säure durch Wasser aus Brot herauszubringen war. Als unzweckmässig zeigte sich dabei die Verwendung heissen Wassers, das trübe, kleisterige Auszüge lieferte, während kaltes Wasser nur wenig getrübte leicht durch Sedimentiren sich klärende Extracte gewinnen liess. Bei heissem Wetter wurde natürlich durch Anwendung von gekühltem Wasser und Einstellen der zu extrahirenden Proben in den Eisschrank vermieden, dass etwa durch weitere Gärung neue Säure gebildet werde.

Ich gebe nur einige Beispiele solcher Extractionen:

Versuch I.

Decorticirtes Schrotbrot von Uhlhorn in Grevenbroich.

200 g werden 3mal mit kaltem Wasser extrahirt, der Rest stand über Nacht im Eisschrank, morgens das Wasser abgegossen, mit den 3 ersten Extractionen vereinigt. Die Flüssigkeitsmenge beträgt 1310 ccm.

Auf 100 g Brot wird gebraucht an Normalalkali

1. bei directer Titrirung
   a) mit Lackmus 10,0,
   b) mit Phenolphthaleïn 13,5;
2. bei indirecter Titrirung
   a) mit Lackmus 9,83 (7,8 im Auszug + 2,03 im Rückstand),
   b) mit Phenolphthaleïn 11,5 (8,8 im Auszug + 7,2 im Rückstand).

Hier waren also etwa 80% der Säure durch Wasser dem Brote entzogen.

Versuch II.

Eine fast vollständige Extraction ergab ein dritter Versuch, bei dem weniger Brot verwendet wurde.

50 g saurer Pumpernikel aus Coesfeld in Westfahlen werden mit Wasser ausgezogen. Die 5 aufeinanderfolgenden Auszüge brauchen

I.	66 ccm	3,96	¼	Normal-Natronlauge	mit	Phenolphthaleïn
II.	210 »	12,6	»	»	»	»
III.	280 »	4,2	»	»	»	»
IV.	320 »	1,56	»	»	»	»
V.	170 »	0,3	»	»	»	»
	Summe	22,62				

Der VI. Auszug erschien mit Lackmus neutral. Als er über Nacht im Eisschrank auf dem Brotrückstand stehen blieb, zeigte er am andern Morgen zusammen mit dem Rückstand titrirt 1,8 ccm ¼ Normalnatronverbrauch.

Es war also mehr als 93% der Säure ausgezogen.

Versuch III.

Aehnlich vollständig gelang die Extraction von 50 g Schwarzbrot aus Hagenow (Mecklenburg).

Die wässrigen Auszüge verbrauchten 6,0, der Rückstand 0,4. Also im Auszug etwa 93,4%.

Bei dem Bestreben, die freie organische Säure von den sauren Phosphaten zu trennen, schlug ich anfangs den Weg der Destillation ein. Da Franz Keller keine Milchsäure — was wohl sagen will keine nicht flüchtige organische Säure — gefunden, so durfte man hoffen durch Destillation des Wasserauszuges die organischen freien Säureu zu gewinnen und im Destillationsrückstand neben etwas Zucker, Gummi u. dergl. das saure Phosphat und die organischsauren Salze wie Kaliumacetat zu finden. Durch

Zusatz von Schwefel- oder Phosphorsäure zum Destillationsrückstand und wiederholtes Destilliren schien dann die an Alkali gebundene organische Säure leicht zu gewinnen. Eine Differenzrechnung sollte die Menge des Kaliummonophosphates ergeben.

Zahlreiche, sehr zeitraubende und die Geduld hart anf die Probe stellende Destillationen zeigten nun aber die Undurchführkeit des obigen Planes. Destillirt man nämlich die freie organische Säure aus einem wässerigen Brotauszug ab, so erhält man — ganz gleich, ob man ohne weitere Vorsichtsmaassregeln aus einem einfachen Kolben oder mit einem Landmann'schen Apparat im Wasserdampfstrom destillirt — bei der ersten Destillation erst eine mässige Säuremenge, bei jedem folgenden Wasseraufgiessen und Wiederholen der Destillation stets neue allerdings allmählich kleiner werdende Mengen. Trotz der relativen Schwerflüchtigkeit der Essigsäure (118°) und der möglichen ja wahrscheinlichen Anwesenheit von höheren Fettsäuren befremdete mich diese enorme Langsamkeit des Destillirens der Essigsäure und ich begann Controlversuche mit reinem Material, die alsbald bestätigten, was ich vermuthete: Bei der Destillation macht Kaliummonophosphat allmählich aus Kaliumacetat Essigsäure frei, es ergibt also die lange fortgesetzte Destillation nicht nur die Essigsäuremengen, die frei vorhanden sind, sondern bis zu einem gewissen Grade auch die als Kaliumacetat vorhandenen.

Für die letzten Sätze seien einige Beispiele angeführt:

Versuch IV.

Es werden 200 g Uhlhorn'sches (decorticirtes) Schrotbrot mit 1310 ccm Wasser extrahirt und hiervon je 250 ccm weiter untersucht. 250 Auszug brauchen 13,8 $^1/_4$ Normalnatronlauge.

Probe A. Wird in einer Porzellanschale zum dicken Syrup eingeengt.

Der Syrup verbraucht mit Phenolphthaleïn titrirt 10,9 ccm $^1/_4$ Normalnatronlauge.

Also waren flüchtige Säuren weggegangen = 13,8 — 10,9 = 2,9 ccm $^1/_4$ Normalalkali.

Probe B. Wird vorsichtig bis zum dicken Syrup in Kolben abdestillirt.

Das Destillat verbraucht 3,1.

Probe C. Vorsichtig im Wasserdampfstrom abdestillirt, stets bis auf etwa 5 ccm eingeengt, dann wieder 30 ccm Wasser dazu und weiter destillirt, dies wird 12 mal wiederholt.

Destillat	I	3,0	Destillat	VIII	0,35
»	II	0,7	»	IX	0,35
»	III	0,5	»	X	0,35
»	IV	0,3	»	XI	0,3
»	V	0,25	»	XII	0,2
»	VI	0,25	»	XIII	0,1
»	VII	0,25			

Dieser Versuch schien zu beweisen, dass etwa 2,9, resp. 3,0 ccm 1/4 NK entsprechend flüchtige Säure präexistire, gab aber keine Auskunft darüber, ob die Säure in den späteren Destillaten präexistirt habe oder ob sie aus Kaliumacetat und Monokaliumphosphat oder gar durch eine Art trockene Destillation[1]) aus Kohlehydraten u. dergl. entstanden sei.

Hierauf gab Antwort:

Versuch V.

0,1 Traubenzucker + 0,05 Stärke + 0,05 Eiweiss wurden in 75 ccm Wasser gelöst und destillirt. Nach dem Abdestilliren nochmals 30 ccm Wasser zugesetzt und abermals destillirt. In beiden Destillaten war keine Säure.

Um aber auch gleich die Verhältnisse kennen zu lernen, die auftreten, wenn man ähnliche Mischungen wie in Versuch VI mit Säurezusatz destillirt, wurde Versuch VII angestellt.

Versuch VI.

0,5 Traubenzucker + 0,5 Stärke + 0,5 Eiweiss + 100 Wasser + 10 ccm Normalschwefelsäure. Stets bis auf 2—4 ccm abdestillirt, dann 30 Wasser zugesetzt und auf's neue destillirt.

Die auf einander folgenden Destillate brauchten: 0,1; 0,25; 0,15; 0,15; 0,1; 0,1 1/4 Normalalkali d. h. es können sehr kleine Säuremengen beim starken Eindampfen neu gebildet werden, wenn Schwefelsäure zum Kolbeninhalt zugesetzt wurde.

Weitere Controlversuche beschäftigten sich mit der Schwerflüchtigkeit der Essigsäure. Aehnliche Versuche mit gleichem Resultate haben in den letzten Jahren, wie ich nach Abschluss meiner Arbeit sah, Eckenroth[2]) und Prior[3]) angestellt).

Versuch VII und VIII.

Es wurde zweimal versucht, 10 ccm 1/10 Normalessigsäure mit 30 ccm Wasser versetzt, zu destilliren. Stets auf 3—5 ccm eingeengt, dann auf's neue 30 ccm Wasser zugesetzt.

1) Trotz aller Sorgfalt und des Bestrebens, den Kolbeninhalt niemals anbrennen zu lassen, färbt sich letzterer doch allmählich braun.

2) Eckenroth, Bayerisches Brauereijournal I. p. 244.

3) Prior E., a. a. O. p. 32.

I. Destillat	6,6	$^1/_{10}$ Normalsäure		I. Destillat	4,0	$^1/_{10}$ Normalsäure
II. »	2,3	»		II. »	2,9	»
III. »	0,7	»		III. »	1,1	»
Rückstand	0,4	»		IV. »	1,2	»
	10,0	»		V. »	0,4	»
				Rückstand	0,4	»
					10,0	»

Hiermit ist bewiesen, dass es Täuschung wäre, wollte man die erste flüchtigste Fraction in Versuch 5 schon für die ganze flüchtige Säure halten, wobei angenommen wird, die flüchtige Säure sei Essigsäure (siehe unten).

Versuch IX.

Hierbei wurde ermittelt, ob Essigsäure in merklichem Maasse verloren gehe; wenn 10 ccm $^1/_{10}$ Normalessigsäure längere Zeit offen stehen. Nach 36stündigem Stehen zweier solcher Proben im Monat Juni (ohne Sonnenbestrahlung) im Laboratorium zeigte sich eine Titerabnahme auf 9,25 und 9,5.

Endlich zeigt noch ein Beispiel wie Monokaliumphosphat Natriumacetat in der Hitze zerlegt.

Versuch X.

Es werden 1,36 g KH_2PO_4 und 0,82 Natriumacetat $C_2O_2H_3Na + 3H_2O$ in 50 g Wasser gelöst, destillirt, jedesmal nach Beendigung der Destillation wieder 30 ccm zugesetzt und auf's neue destillirt.

Die successiven Destillate verbrauchen von $^1/_4$ Natronlauge:

9,6; 3,1; 1,5; 1,0; 0,7; 0,4; 0,5; 0,6; 0,2; 0,3.

In 10 Destillationen wird also Säure erhalten entsprechend 17,9 $^1/_4$ Normalnatronlauge. Die theoretisch mögliche Essigsäuremenge hätte 24,1 $^1/_4$ Normalnatronlauge gebraucht.

Es ist also nach 10maligem Destilliren etwa 75% des Natriumacetats zerlegt. Ob bei geduldigem Weiterdestilliren schliesslich eine vollkommene Umsetzung stattgefunden hätte, wurde nicht untersucht.

Nach Mittheilung dieser Controlversuche, die die verschiedenen Schwierigkeiten zeigen, durch Wasserauszüge die organisshen Säuren zu gewinnen, kann ich verzichten, ein Beispiel jener endlosen vergeblichen Destillationen hier abzudrucken, die ich mit wässrigen Brotauszügen mit und ohne Schwefelsäurezusatz vornahm.

Nachdem alle Versuche durch Destillation der Wasserauszüge eine Trennung von freier Säure und saurem Salz zu erreichen gescheitert, kehrte ich zu einem Gedanken zurück, den ich Anfangs leider verworfen — nämlich durch Aetherextraction

die organischen Säuren von dem Kaliumphosphat und Kaliumacetat zu trennen.

Es wurde festgestellt:

1. Gesammtacidität durch Titriren des Brotbreis mit Phenolphthaleïn, anfangs daneben auch mit Lackmus.

2. Acidität der gesammelten Aetherauszüge. Zu diesem Zwecke wurde das Brot (50 oder 100 g) fein zerpflückt 14 Tage lang in einem Kolben mit Aether behandelt und in dieser Zeit wenigstens 14 mal je 200 ccm frischer Aether aufgegossen.[1]) Mit der letzten Aetherportion standen die Kolben noch 6 Wochen Die abgegossenen Aethermengen wurden zu drei Viertel in eine Sammelflasche geschüttet, je ein Viertel wurde titrirt. Die Titrirung geschah mit Phenolphthaleïn als Indicator, der Aether wurde hierzu mit Wasser unterschichtet und sehr gut durchgeschüttelt. Es zeigte sich, dass wässerige und alkoholische Kalilauge gleiche Säurezahlen lieferten, in Folge dessen wurde stets wässrige Lauge verwendet.

3. Acidität des mit Aether erschöpften Rückstandes. Derselbe wurde mit Wasser angerührt und der Brei mit Lackmus und Phenolphthaleïn als Indicator titrirt.

Die Resultate waren in 100 g Krume (Indicator Phenolphthaleïn). Siehe Tabelle II auf S. 379.

Eine Reihe von Broten wurden auch nach folgender Methode untersucht: 15, 25 oder 50 g Brot wurden mit neutralem Aether 2—4 Tage in den späteren Versuchen 6—8 Tage mit dem Soxhlet'schen Extractionsapparat extrahirt. Der Aetherextract wurde titrirt, ebenso der mit Wasser versetzte Rückstand.

Die Resultate sind in Tabelle III auf S. 380 enthalten.

Aus Tabelle II und Tabelle III folgt, dass die durch in Aether lösliche freie Säure bedingte Acidität $^1/_3$—$^2/_3$ der Ge-

1) Der von E. Prior angegebene Weg, die Phosphate im Bier mit Alkohol-Aether zu fällen und die freien Säuren im Alkoholäthergemisch zu extrahiren, begegnet sich im wesentlichen mit meinen späteren Versuchen, nur extrahirte ich die freien Säuren mit Aether allein und nahm ohne specielle Versuche an, dass die in Aether nicht lösliche Acidität des Rückstands durch saures Phosphat bedingt sei. Ich weiss sehr wohl, dass ich damit z. B. kleine Mengen ätherunlöslicher organischer Säuren vernachlässigt haben kann.

Tabelle II.

I Ursprung	II Name des Bäckers	III Farbe	IV Gesammtacidität in ccm Normalnatron[1])	V Acidität des Aethers	VI Acidität des Rückstandes[1])	VII Verhältniss der Aetheracidität zur Gesammtsäure
Würzburger Graubrote[2]) beim Bäcker gekauft Sommer 1892	M.	dunkel	13,3 (11,1)	5,1	8,5 (5,6)	39 %
	B.	dunkel	14,2 (10,8)	5,1	nicht bestimmt	35 %
	A.	sehr hell	5,3 (3,9)	3,5	2,1 (1,5)	66 %
	Schä.	mittel	9,9 (7,6)	3,9	6,3 (3,8)	39 %
	Schw.	dunkel	13,2 (10,8)	5,1	7,7 (5,0)	39 %
	Schm.	dunkel	10,7 (9,1)	3,8	6,6 (4,6)	35 %
Würzburger Graubrot.[3]) Normale Teiggährung um 26 h verlängert	N.	dunkel	21	10,5	nicht bestimmt	50 %
Schrotbrot von Uhlhorn in Grevenbroich[4])	A. P.	sehr dunkel	13,75	4,5	nicht bestimmt	33 %

sammtacidität beträgt. Doch sind diese höchsten und niedrigsten Werthe nur ganz vereinzelt beobachtet. In Tabelle II schwanken die Werthe meist zwischen 35 und 50 und der Werth 39 % kehrt dreimal wieder. In Tabelle III, deren Werthe mir als die zuverlässigeren erscheinen, weil die Extraction mit Aether eine viel kunstgerechtere war, schwankt die Aetheracidität meist um 50% herum (in 12 Versuchen liegt sie achtmal zwischen 47,6 und 53,2), nur zweimal sind Werthe von 35,7 und 37,5 beobachtet, einmal 67,1 %[5]). Meine Resultate sind nicht zahlreich genug, um sichere Schlüsse ziehen zu können, ob sich bei verschiedenen Brotsorten

1) Die eingeklammerten Zahlen geben die mit Lackmus erhaltenen Werthe.

2) Die Untersuchung der 6 Würzburger Graubrote auf die im Text beschriebene Weise ist von Herrn Dr. E. Spiegelhalder aus Lenzkirch ausgeführt. Vgl. hierüber seine Dissertation: Beiträge zur Kenntnis der fränkischen Brotverhältnisse. Würzburg 1893.

3) Extraction 14 mal wiederholt.

4) Extraction 7 mal wiederholt, wohl noch nicht ganz vollendet.

5) In diesem Fall, über den S. 390 weiterberichtet ist, haben sehr eigenthümliche Gährprozesse stattgefunden — es unterscheidet sich auch die Zusammensetzung der ätherlöslichen Säuren, wie wir sehen werden, stark von der bei den anderen Broten gefundenen.

das Verhältniss der ätherlöslichen Säuren zu der Gesammtsäure verschieden verhalte — es dürfte Zufall sein, dass in den untersuchten Milchsemmeln (Nr. 1 und 2 in Tabelle II) die Aether-Acidität besonders niedrig gefunden wurde — ich lege um so weniger Werth auf diesen Befund, weil beim Weissbrot die Säurezahlen absolut sehr niedrig sind und die kleinsten Ungenauigkeiten der absoluten Zahlen gleich das Procentverhältnis sehr verändern. Ferner muss vor Verallgemeinerung warnen, dass in Tabelle II das hellste und schwächst sauere Graubrot einen sehr hohen Procentsatz an freien Säuren aufweist.

Dass die Schwankungen im Gehalt an freien Säuren nicht von verschieden vollständiger Extraction herkommen, beweist, dass ich unter den durch * als besonders sorgfältig gekennzeichneten Analysen auch solche finden, die einen besonders kleinen Gehalt an extrahirbarer Säure aufweisen.

Tabelle III.

Name des Gebäckes	Zubereitung	100 g Brot enthalten ccm Normalsäure			Von der Acidität ist in Aether		Nummer
		in Aether löslich	in Aether unlöslich	Zusammen	löslich %	unlöslich %	
Milchsemmel I	Milch, Weizenmehl, Hefe	0,6	1,0	1,6	37,5	62,5	1
„ II*		1,55	2,75	4,3	36,0	64,0	2
Weissbrot*	Wasser, Weizenmehl, Hefe	1,7	1,85	3,55	47,9	52,1	3
Graubrot I	Wasser, $^2/_3$ Roggenmehl, $^1/_3$ Weizenmehl, Sauerteig, norm. Gährdauer	3,2	3,5	6,7	47,8	52,2	4
„ II*		3,5	5,4	8,9	39,4	60,6	5
Schwarzbrot	Wasser, Roggenmehl, Sauerteig	4,9	4,3	9,2	53,2	46,8	6
Graubrot III	Wasser, $^2/_3$ Roggenmehl $^1/_3$ Weizenmehl, Sauerteig, Gährdauer um 26 h verlängert	10,05	11,05	21,1	47,6	52,4	7
„ IV		6,0	5,65	11,65	51,5	48,5	8
„ V*		6,72	7,15	13,6	48,5	51,5	9
„ VI		9,4[1])	4,6[1])	14,0[1])	67,1[1]	32,9	10
Pumpernickel I	Delicatesspumpernick.	8,0	8,5	16,5	48,4	51,6	11
„ II*	Sökeland	8,8	9,2	18,0	49,0	51,0	12

Die mit * bezeichneten Proben sind mindestens 8 Tage lang im Soxhlet-schen Apparat extrahirt.

Vorläufig berechtigen also meine Versuche nur zu dem Schluss, dass in den verschiedensten Brotsorten in der Regel sich die Acidität etwa zu gleichen Theilen aus freien ätherlöslichen Säuren und sauren Phosphaten zusammensetzt, dass aber in selteneren Fällen die freien Säuren auf 1/3 der Gesammtacidität sinken und auf 2/3 steigen können.

Ich komme nun zu der Frage, was für Säuren finden sich im Brote.

Wir haben oben gesehen, dass Keller Essigsäure im Brot gefunden hat. Günther hat im Mehl sehr geringe Ameisensäuremengen und wenig Milchsäure gefunden. Alle meine methodischen Untersuchungen sind an Würzburger Graubroten ausgeführt, deren Gährungsdauer häufig absichtlich bedeutend verlängert war, um mehr Säure zu erhalten. Schrotbrote habe ich nie methodisch qualitativ auf ihre Säure untersucht.

Meine Untersuchungen über die Natur der Brotsäuren ergaben bisher folgende Resultate:

Es wurden 10 Pfund sehr stark saures Würzburger Graubrot (von absichtlich 48stündiger Gährdauer) mit Aether drei Wochen lang ausgezogen, der abgegossene Aether stets abdestillirt, das Destillat wieder auf das Brot gegossen. So wurde eine schwache blassgelbe ätherische Brotsäurelösung erhalten. Dieser Auszug wurde mit Wasser versetzt, der Aether in seiner Hauptmenge im Wasserbad abgetrieben und der wässerige noch geringe Aethermengen enthaltende Rückstand einer fractionirten Destillation unterworfen. Zuerst ging nochmals eine vorwiegend aus Aether bestehende Portion über, wobei sich eine ziemlich reichliche ölige Schicht auf dem wässrigen Kolbeninhalt abschied, die abfiltrirt und gut gewaschen wurde. Bei der Destillation des wässrigen Kolbeninhalts wurde erst eine kleine eigenthümlich stechend riechende Fraction (etwa zwischen 98° und 100°) erhalten. Hierauf ging die Hauptmenge des Wassers deutlich nach Essigsäure riechend über. Die Destillation wurde unter zweimaligem Ersatz des Wassers im Paraffinbade wiederholt, wobei im Inneren des Destillirkolbens (im Luftraum) das Thermometer

auf 115—120° stieg. Nach dem Abdestilliren der flüchtigen Säure blieb eine bräunliche, stark sauer schmeckende, geruchlose, dickliche Flüssigkeit im Kolben zurück.

Es wurden nun folgende nähere Untersuchungen ausgeführt.

Die stechend riechende Probe *A* wurde auf Aldehyd und Ameisensäure untersucht.

Die vereinigten wässrigen Destillate *B* wurden zusammen weiter verarbeitet und auf Essigsäure und Ameisensäure untersucht.

In den Oeltropfen *C* wurde nach einer schwerflüchtigen wasserunlöslichen Säure gesucht.

Der wässrige Rückstand *D* wurde zur Darstellung von Milchsäure benutzt.

Der Aldehydnachweis in der ersten Fraction *(A)* gelang vorzüglich — zur Prüfung auf Aldehyd hatte namentlich das eigenthümliche aldehydartige Geruch Veranlassung gegeben. Es wurden mit den gewonnenen etwa 15 ccm folgende Proben mehrfach sehr schön erhalten;

1. Reduction von Silbernitratlösung nicht nur bei saurer, sondern auch bei alkalischer Reaction.
2. Auftreten einer gelbrothen, grün fluorescirenden Färbung nach Zusatz von etwas gesättigter wässriger Metaphenylendiaminlösung.
3. Auftreten einer schönen intensiven Violettfärbung beim Versehen von etwas fuchsinschwefliger Säure mit dem Destillate.

Stets wurden Controlreactionen mit destillirtem Wasser und sehr schwachen Aldehydlösungen angestellt, erstere schlugen fehl, letztere ergaben ganz die Resultate wie unser Destillat.

Von diesen Reactionen konnte die Reduction der Silbernitratlösung bei saurer Reaction auch auf Ameisensäure zu beziehen sein, die vorhandenen Destillatmengen waren aber zu klein, um noch weitere Ameisensäurereactionen anzustellen.

Da es mir fraglich erschien, ob der Aldehyd aus dem Aether oder aus dem Brot stammte, untersuchte ich zuerst 200 ccm Aether, die über 30 ccm Wasser abdestillirt wurden — der Destillationsrückstand gab deutlich obige Aldehydreactionen. Aber

auch als eine Graubrotprobe, die 24 Stunden gegohren hatte, mit destillirtem Wasser übergossen destillirt wurde, lieferten die ersten 20 ccm des Destillats schwache aber deutliche Reactionen[1]). Mit Fuchsinschwefliger Säure Blassrosafärbung, mit Metaphenylendiamin schwache Gelbfärbung, mit Silbernitrat ohne Ammoniakzusatz gekocht starke Rothgelbfärbung und etwas Trübung, mit Silbernitrat und NH_3 gekocht starke Gelbfärbung ohne Trübung. Das verwendete destillirte Wasser gab von diesen Reactionen nichts als eine Spur Gelbfärbung mit Metaphenylendiamin. Wasser, dem Spuren von Aldehyd zugesetzt waren, verhielt sich wie das Brotdestillat. — Auch ein zweiter derartiger Versuch, bei dem aber das Brot erst mehrmals mit Wasser extrahirt und der Wasserauszug fractionirt abdestillirt wurde, lieferte Spuren von Aldehyd. — Die mit Soda schwach alkalisirten und vorsichtig sehr stark eingeengten Destillate wurden mit Essigsäure angesäuert und gaben jetzt noch eine schwache Reduction von Silbernitrat, was vielleicht auf Spuren Ameisensäure gedeutet werden kann.

Ueber das Vorkommen von Ameisensäure wird unten noch einiges bemerkt werden, hier gebe ich noch eine Uebersicht (siehe Tabelle IV auf S. 384) über eine grössere Reihe von Versuchen, die dem Aldehyd und Alkoholnachweis gewidmet waren.

Aus diesen Versuchen muss ich schliessen: In frischem Weissbrot sind Alkoholspuren nachweisbar, im Graubrot gelang es mir nicht. Aldehyd kommt in der Krume von Weiss- und Graubrot nicht vor, in kleiner Menge in der Rinde von Graubrot. Destillirt man einen Brotbrei von Weiss- oder Graubrot so, dass Anbrennen eintritt, so entsteht dabei Aldehyd in deutlichen Mengen. Ob dieses Aldehyd Aethylaldehyd ist, ist mit meinen Versuchen nicht entschieden. Ich will es auch nicht als unmöglich hinstellen, dass gelegentlich in frischem Weiss- oder Graubrot ohne Anbrennen Aldehydspuren auftreten können — ganz sichere Beweise kann ich aber nicht dafür liefern.

---

1) Ob Anbrennen absolut vermieden wurde, ist im Protokoll nicht bemerkt.

Tabelle IV.

Brotsorte	Alter	Wie zum Versuch verwendet?	Reductionsprobe mit Silbernitrat	Fuchsinschwefl. säureprobe	Metaphenylendiaminprobe	Jodoformprobe[1])
Weissbr.-krume	ganz frisch	Brotbrei destillirt ohne Anbrennen	0	0	0	gut
"	"	Brotbrei destillirt mit Anbrennen	sehr stark bei saurer u. alkalischer Reaction	sehr stark	—	—
"	"	Wasserauszug	0	0	0	schwach
"	"	Brotbrei destillirt mit Anbrennen	kräftig sauer und alkalisch	sehr stark	stark	stark
Graubrot krume	"	Wasserauszug	0	Undeutl. Spur	0	0
"	"	Brotbrei ohne Anbrennen	0	0	0	0
"	"	Brotbrei mit Anbrennen	—	deutlich	—	—
Graubrot-rinde	1 Tag alt	Wasserauszug ohne Anbrennen	—	"	Spur	—
"	3 " "	Wasserauszug ohne Anbrennen	—	0	0	—

Kehren wir wieder zu unserer Hauptuntersuchung zurück.

Das reichliche wässerige Destillat (*B*) wurde mit Soda neutralisirt stark eingedampft, in wenig Wasser gelöst und nach Versetzung mit Schwefelsäure im Paraffinbad bei 100—115° dedistillirt, die Hauptmenge ging bei 105° (Temperatur im Luftraum des Kolbens gemessen) über.

Das Destillat (260 ccm) hat einen deutlich sauren Geruch, riecht aber nicht rein nach Essigsäure, es ist ein scharfer und ein aromatischer (kleieartiger) Beigeruch zu constatiren.

Mit Silbernitrat gibt das Destillat bei saurer aber nicht bei ammoniakalischer Reaction eine deutliche Reduction von Silber, was auf Ameisensäure deutet.[2])

Immerhin besteht das Destillat zum grössten Theil aus Essigsäure, wie folgender Versuch beweist.

1) Aldehyd gibt ebensowohl wie Alkohol die Lieben'sche Jodoformprobe.

2) Eine spätere sorgfältige Prüfung einer Aetherportion aus der gleichen Quelle auf Ameisensäure liess Spuren derselben finden.

Man kocht eine kleine Portion des Destillats mit überschüssigem, frisch gefälltem, gut ausgewaschenem Silberhydroxyd und filtrirt. Beim weiteren Einengen scheidet sich trotz Vermeidung des Tageslichtes etwas metallisches Silber aus (Ameisensäure?). Von dem Silber abfiltrirt erstarrt das klare Filtrat unter dem Exsiccator als prächtige Krystallnadeln.[1])

0,1488 g werden sorgfältig getrocknet, dann im Porzellantiegel geglüht, sie liefern 0,0956 g metallisches Silber.

Theoretisch liefern 0,1488 g Silberacetat 0,0962 g Silber, es ist also das Salz reines Silberacetat gewesen.

Das Destillat enthielt in diesem Falle übrigens ausser etwas Ameisensäure und viel Essigsäure auch noch andere Substanzen, was sehr störend bei den Versuchen, die Barytsalze der Säuren darzustellen, hervortrat. Ich erhielt nämlich ein gelblich gefärbtes Barytsalz und zwar in etwas grösserer Menge als nach dem Ergebnis der Säuretitration für reinen essigsauren Baryt zu erwarten, doch zeigte dasselbe beim Glühen einen entschieden zu niedrigen Barytgehalt, während ja die Beimengung geringer Ameisensäuremengen den Barytgehalt hätte erhöhen sollen. Es liesse sich dies auf Beimengung von etwas Buttersäure deuten.

In einem zweiten Versuche war ich glücklicher. Ich bereitete mir aus rheinischem Schwarzbrod einen wässerigen Auszug und destillirte denselben unter etwas Schwefelsäurezusatz. Das Destillat war frei von Ameisensäure und lieferte ein reines Baryumacetat.

Nach vollständigem Trocknen über Schwefelsäure waren 0,2668 Baryumacetat erhalten worden, die beim Glühen 0,1942 Baryumcarbonat und nach Behandeln mit Schwefelsäure 0,2193 g Baryumsulfat ergaben.

Es sollten liefern: 0,2668 $Ba(C_2O_4H_3)_2 + H_2O$
0,192 Baryumcarbonat
0,228 Baryumsulfat.

Methodische Studien über das Vorkommen von Ameisensäure im Brot habe ich bisher nicht angestellt, die bei den Untersuch-

1) Reines Silberacetat kann man ohne nennenswerthe Zersetzung eindampfen.

ungen auf Aldehyd beobachteten Ergebnisse vermochten dazu nicht zu ermuthigen.

Eher möchten Untersuchungen auf Buttersäure positiv ausfallen. In Broten habe ich niemals auf Grund von Geruchswahrnehmungen Veranlassung gehabt auf Buttersäure zu prüfen — die doch, wie ich mich überzeugte, in sehr kleinen Mengen durch ihren intensiven Geruch auffällt.[1])

Dagegen habe ich deutlich durch den Geruchsinn Buttersäure constatirt, als Weizenschrot 24 Stunden im Brutschrank mit Wasser zu Teig angerührt stand. Auch der Aetherauszug über Wasser destillirt, liess ein intensiv nach Buttersäure riechendes Wasser im Kolben zurück, auf dem Fettaugen schwammen. Ich behalte mir vor, in einer späteren Arbeit noch einige Angaben über Ameisensäure und namentlich Buttersäure nachzutragen, wozu aber Serien neuer Versuche nöthig sind.

Ich komme jetzt zu den nichtflüchtigen Säuren. Wie oben erwähnt scheidet sich nach Entfernung des Aethers eine ölige Schicht (*C*) auf dem wässrigen geruchlosen Kolbenrückstand aus, die ein Gemisch von Fett und Fettsäure darstellt.

Nachdem dieses Gemisch abfiltrirt und lange mit heissem und kaltem Wasser gewaschen war, wurde dasselbe in kalter 2 ½ proc. Sodalösung suspendirt und geschüttelt, und dadurch die freien Säuren in Seifen verwandelt. Die Seifenlösung wurde durch wiederholtes Ausschütteln mit grossen Mengen Aether von den Fetten befreit und solange damit fortgefahren, bis die Anfangs gelbe Farbe des Aethers farblos geworden war.

Der abgehobene Aether wurde mit Wasser gewaschen (um kleine Sodamengen zu entfernen), hierauf das Fett durch Abdestilliren des Aethers rein gewonnen.

Die Seifenlösungen wurden auf dem Asbestbad mit Schwefelsäure zersetzt und die reichlich abgeschiedenen Fettsäuretropfen

1) Die Destillate von ätherischen wie wässerigen Brotauszügen haben zwar stets einen starken kleieartig aromatischen schwer zu definirenden Geruch, doch sind trotzdem 10 % einer nur 1 ‰ igen Buttersäurelösung hinreichend, um noch dem Destillat einen deutlichen Geruch nach Buttersäure zu geben. — Starke Essigsäure verdeckt den Buttersäuregeruch.

abfiltrirt, auf dem Filter gut gewaschen, dann getrocknet, in Aether gelöst und in einem kleinen Schälchen der Aether abgedunstet. Es wurden so aus einem Theil des Aetherauszugs aus 10 Pfund Brot 1,4355 g einer braungelben öligen Flüssigkeit vom Geruch der höheren Fettsäuren erhalten. In Eis erstarrt die Masse zu einer Consistenz, die an krystallisirten Honig erinnert. Der Schmelzpunkt liegt etwa bei 14°, was der Oelsäure entspricht.[1])

Nähere Forschungen über die Natur dieser wohl der Oelsäure nahestehenden Säure anzustellen, habe ich unterlassen. Die Säure muss ein sehr hohes Moleculargewicht haben, denn 1,4355 g brauchten nur 6,9 ccm Normalnatronlauge zur Neutralisirung. Oelsäure hätte 5,1 ccm gebraucht. Vermuthlich liegt hier ein Gemisch höherer Fettsäuren vor. Ich möchte vorläufig für das wahrscheinlichste halten, dass diese Säure aus dem Fett des Getreides bei der Teig- oder Brotbereitung abgespalten sei. Es will mir sogar möglich scheinen, dass meine Bestrebungen der Isolirung der Säure einigemal beigetragen haben könnten, Fett zu spalten. Ich filtrirte nämlich in einigen Versuchen die nach der Aetherverjagung entstandene Fettschicht nicht vor sondern nach der lange dauernden Essigsäuredestillation ab. Vielleicht erklärt sich so theilweise die auf Seite 390 hervortretende wechselnde Menge der höheren nicht flüchtigen Säure. Diese Erklärung, die mir erst nach Abschluss der Arbeit einfällt, wird noch eine specielle Prüfung erfahren müssen.

Die nach dem Abfiltriren der Fettschicht übrigbleibende geruchlose Lösung erwies sich als sehr sauer und etwas herb schmeckende starke Milchsäurelösung — von der aus einem Theil des Aetherauszugs 2,025 g gewonnen wurden.

Der Beweis, dass es sich um Gährungsmilchsäure handelte, wurde folgendermaassen geführt:

Es wurde Zinklactat hergestellt, dasselbe erschien nicht genügend farblos, deswegen wurde nur die Hauptmenge heraus-

1) Nach dreimonatlichem Aufbewahren in bedecktem Schälchen hat die Substanz sich theilweise in bei Zimmertemperatur feste Crystalle verwandelt, die bei 45° zu schmelzen beginnen.

gehoben, von der bräunlichen Mutterlauge getrennt, mit etwas Wasser gewaschen, dann in wenig Wasser gelöst über H_2SO_4 auskrystallisiren lassen. Die Krystallform entsprach mikroskopisch genau der zum Vergleich aus reinen Materialien hergestellten Zinklactatkrystallen,

0,2743 g meines Zinklactates verloren bei 100° 0,0493 g Krystallwasser, enthielten also 17,9 statt 18,18% Krystallwasser.

In einem zweiten Versuche lieferten:

0,268 g Zinklactat bei 100° 0,048 g Krystallwasser, d. h. wieder 17,9% statt 18,18.

Nicht ganz so befriedigend verlief ein Versuch, aus dem Bleigehalt des Bleilactats nach R. Palm[1]) die Milchsäure nachzuweisen, ich erhielt aus 0,504 mit Bleiessig und alkoholischem Ammoniak gefälltem Bleilactat nur 0,506 statt 0,539 g Bleisulfat, obwohl kein Versehen bei der Analyse gemacht wurde — es liegt dies sicher daran, dass die Bleifällung neben Milchsäure noch geringe Mengen anderer Stoffe enthielt, hatte doch der Syrup nicht aus chemisch reiner Milchsäure bestanden.

Nach meinen bisherigen noch zu vertiefenden Untersuchungen enthält also jedes mittelstark saure Brot Essigsäure und Milchsäure in so reichlichen Mengen, dass der Nachweis sicher erbracht werden kann; warum Keller keine Milchsäure fand, ist mir unerfindlich. Daneben fehlt nie eine geringe Menge einer höheren Fettsäure, auch Ameïsensäure und Aldehyd scheinen zuweilen spurweise vorhanden. Buttersäure konnte bisher noch in keinem Brot nachgewiesen werden, dürfte aber auch zuweilen vorkommen.

Ueber das relative Mengenverhältniss der flüchtigen zu den nichtflüchtigen freien Säuren geben folgende Versuche Auskunft. Dieselben wurden im Princip ebenso angestellt, wie der eben ausführlich beschriebene quali-

1) R. Palm (Z. f. a. Ch. 1888. XVII. 323).

tative Versuch, kurz wiederholt verfuhr ich also folgendermaassen:

Es wurden auf einem der beiden oben beschriebenen Wege (S. 378) möglichst vollständige Aetherextracte aus Brot dargestellt, und dieselben über Wasser abdestillirt. Nachdem der Aether übergegangen und titrirt war (derselbe enthielt meist nur sehr wenig Säure), wurde das Wasser auf dem Asbestbad bis auf etwa 30 ccm übergetrieben, weitere 100 ccm Wasser in den Destillirkolben gegeben und die Destillation so 5—8 Mal und öfter wiederholt. Als beendet wurde die Destillation angesehen, wenn das letzte Destillat bei der Titrirung nicht mehr als 0,1 bis 0,15 ccm ¼ Normalnatronlauge brauchte. Der Säuregehalt des ätherischen und der wässerigen Destillate wurde addirt. Nach dem Abtreiben der flüchtigen Säure wurde der Kolbeninhalt erkalten lassen, die abgeschiedenen Fette und wasserunlöslichen Fettsäuren auf einem Filter gesammelt, auf demselben mehrfach mit kaltem und warmem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser neutral abfloss. Der Filterrückstand wurde dann in Aether gelöst und unter starkem Durchschütteln mit Wasser mit ¼ Normalnatronlauge titrirt, ebenso die nichtflüchtige wasserlösliche Säure. Nach den obigen Auseinandersetzungen darf die flüchtige Säure als vorwiegend aus Essigsäure, die nichtflüchtige wasserlösliche als Milchsäure angesehen werden. Buttersäuregeruch fiel weder bei den flüchtigen noch bei den nichtflüchtigen Antheilen auf. Die Resultate theile ich nicht in den Originalzahlen mit, weil sehr verschieden grosse — nicht immer bekannte — Brotmengen in Arbeit genommen waren, sondern gleich in Procent der Gesammtacidität des Aetherauszugs resp. der freien Säuren. (Siehe Tabelle V auf S. 390).

Es ist selbstverständlich, dass die Resultate der Tabelle auf keine mathematische Genauigkeit Anspruch machen können, eine absolut genaue Trennung der drei Componenten, die ich in den freien Säuren annehme, ist mit unsern Mitteln nicht möglich.

Immerhin enthält die Tabelle eine Reihe interessanter Resultate: In fast allen untersuchten Broten nimmt die Essigsäure weitaus die wichtigste Stelle unter den freien Säuren ein, ihr

Procentgehalt betrug nur bei einem Kunstpumpernikel 42,9, sonst nie unter 50%. In der Mehrzahl der Analysen betrug der Essigsäuregehalt nahezu zwei Drittel der Gesammtsäure. Dass bestimmte Brotsorten oder bestimmte Gährungsdauer einer reichlichen Essigsäureentstehung besonders günstig wären, geht aus meinen Zahlen nicht hervor, den höchsten und einen der niedrigsten procentischen Essigsäuregehalte finden wir bei zwei Graubroten von um 26 Stunden verlängerter Gährungsdauer.

Tabelle V.

Nummer	Brotart	Bereitung und Gährdauer	Wenn die Gesammtacidität der freien Säuren 100 betrug, so waren darin: Flüchtige Säuren (meist Essigsäure)	Nicht flüss. Säuren: in Wass. unlösl. (höhere Fettsäur.)	in Wass. löslich (meist Milchs.)
1*	Weissbrot	(Wasser, Weizenmehl, Hefe)	64,5	9,6	25,8
2*	Milchbrot	(Milch, Weizenmehl, Hefe)	58,4	15,0	26,6
3	Graubrot		63,0	17,0	20,0
4*	„	1/3 Weizen, 2/3 Roggen, Sauerteig. Normale Gährdauer	55,0	15,5	29,5
5	„ (Mischg. v. 6 versch. Graubr.		69,7	13,3	17,0
6	Schrotbrot	Roggen, Sauerteig	69,5	30,5	
7	Graubrot	1/3 Weizen, 2/3 Roggen, Sauerteig 26 h Gährdauer	76,6	23,4	
8*	„	1/3 Weizen, 2/3 Roggen, Sauerteig 26 h Gährdauer	65,8	17,5	17,5
9	„	1/3 Weizen, 2/3 Roggen, Sauerteig 48 h Gährdauer	62,5	10,5	27,0
10*	„	1/3 Weizen, 2/3 Roggen, Sauerteig 26 h Gährdauer	51,5	4,2	44,3
11*	Sökelands Delicat.-Pumpernick.	Roggenschrot	56,8	10,7	32,5
12*	„ „	„	42,9	5,8	51,2

Die mit * bezeichneten Auszüge wurden besonders oft abdestillirt.

Die nichtflüchtigen Säuren theilen sich in das übrige Drittel in ziemlich unregelmässiger Weise, doch ist in der grossen Mehrzahl der Fälle die Milchsäure reichlicher als die noch unbekannte Fettsäure vertreten (vgl. über letztere oben S. 387). Nur zwei Brote passen in das eben skizzirte Schema der Säurevertheilung nicht recht hinein, einmal Brot 9, bei dem sich ein ganz auffallend

hoher Milchsäuregehalt zeigte, 44,3 %, und Brot 11, das gar 51 % der Gesammtsäure an Milchsäure liefert. Ich bemerke, dass Brot 9 identisch ist mit Brot 10 von Tabelle III, dort fiel uns der merkwürdig grosse Antheil der Gesammtacidität, der in Aether löslich ist, auf. Ueber die Säuren der Kunstpumpernickel habe ich keine weiteren Versuche angestellt.

In einigen Versuchen habe ich auch den Nachweis geführt, dass neben den freien organischen Säuren auch die oben postulirten organisch sauren Salze vorhanden waren. Doch scheint ihre quantitative Gewinnung ganz besonders umständlich, da der Aether nur sehr langsam aus wässeriger Lösung die organischen Säuren auszuschütteln gestattet. Eine vollkommen durchgeführte Gewinnung aller gebundenen Säuren habe ich nicht aufzuweisen.

Mein Verfahren war folgendes: Es wurde zu dem (meist vorher mit Aether von freien organischen Säuren befreiten) Brote auf 100 g Brot etwa 100 ccm Wasser, 20 ccm Normalschwefelsäure und ca. 70 ccm Aether zugesetzt, kräftig durchgeschüttelt, stehen gelassen, wieder geschüttelt u. s. f., schliesslich der Aether klar abgegossen und mit Phenolphthaleïn als Indicator unter reichlichem Wasserzusatz mit ¼ Normalnatronlauge titrirt.

50 g frisches, mit Aether erschöpftes Schwarzbrot aus Grevenbroich hatten entsprechend 9 ccm ¼ Normalsäure freie Säuren geliefert, und zwar hatten die aufeinanderfolgenden Ausschüttelungen ergeben:

3,0; 3,0; 1,2; 0,6; 0,6; 0,6; 0,3.

Jetzt, mit Schwefelsäure und Wasser übergossen, lieferten 6 neue Ausschüttelungen:

3,0; 0,75; 1,5, 0,9; 1,5; 0,45 = 8,1.

Auch diese gebundene Säure besteht aus flüchtigen und nichtflüchtigen Antheilen, auch hierüber sind noch weitere Untersuchungen nöthig.

In einem anderen Versuch habe ich die Ausschüttelung noch viel länger (mit Unterbrechungen ein Jahr lang) fortgesetzt und schliesslich kein Ende der Extraction gefunden. Immer ergaben die Aetherextracte aus dem mit Schwefelsäure angesäuerten Brote noch Säuregehalt. Durch besondere Versuche habe ich mich überzeugt, dass Schwefelsäure und Salzsäure aus wässerigen

Lösungen nicht in den Aether beim Schütteln übergehen, es ist mir deshalb nicht recht verständlich, warum die Summe der Acidität der Aetherextracte aus dem angesäuerten Brot schliesslich sogar ein wenig die Acidität des wässerigen Auszugs überstieg. War doch zu erwarten, dass die Summe der Acidität der gebundenen und ungebundenen organischen Säure gleich sei der Summe der Acidität der freien Säure und der sauren Phosphate resp. des wässerigen Brotbreis. Ob die anfängliche Verwendung nicht ganz säurefreien Aethers bei der Erlangung dieser Resultate mitgespielt hat, ist leider nicht mehr festzustellen.

3. Der Säuregehalt des deutschen Brotes.

Es folgt nun eine Uebersicht über meine sämmtlichen Brotanalysen in kurzem Protokollauszug, wobei diesmal der Unkrautgehalt nur ganz allgemein angegeben ist [1]). Die Brote habe ich in drei Kategorien getheilt:

I. Schrotbrote, d. h. Brote aus grob zermahlenem Getreide (Schrot, fast ausschliesslich Roggen) ohne Absonderung der Kleie. Die Brote sind durchweg dunkelfarbig, sehr oft feucht, sehr feinporig, oft scheinbar porenlos, knätschig, enthalten wie oben gezeigt fast durchweg Unkraut und vielfach halb oder gar nicht zerkleinerte Roggenkörner. Die Acidität ist sehr wechselnd (siehe unten). Diese Brote werden in ihrer ursprünglichen Form nur im Norden namentlich Nordwesten Deutschlands hergestellt. Die ostpreussischen Brote dieser Kategorie zeigen meist trotz Unkrautgehalt einen etwas besseren Zermahlungsgrad. Die Lockerung des Teigs geschieht theils mit Sauerteig, theils ohne jeden Gährungserregerzusatz durch die Mehlmikroorganismen allein. Die Form der Laibe ist theils länglich, theils rechteckig, das Gewicht schwankt etwa von 12 bis 40 Pfund.

Dieser Kategorie habe ich auch den Sökeland'schen Kunstpumpernickel, ein von Uhlhorn erhaltenes Weizenschrotbrot aus geschältem Weizen, Brote von Steinmetz aus geschältem Weizen, sowie die Grahambrote angeschlossen. Letztere könnte

1) Vgl. hierüber: K. B. Lehmann, dieses Archiv Bd. XXIX, S. 99.

man, da zum Theil nicht übel zermahlenes Getreide zu ihnen verwendet wird, allenfalls auch unter die folgende Kategorie aufnehmen.

II. Schwarz- und Graubrote, d. h. Brote aus ordentlich zermahlenem Getreide (Mehl), das von der Kleie grossen Theils befreit ist. Stets enthalten dieselben Roggen, entweder rein oder, was fast häufiger ist, mit ein Drittel bis ein Viertel Weizen (seltener Gerste) geringerer (dunklerer) Qualität gemischt (Graubrote). In solchen Broten sind von mir — offenbar theilweise wegen zu feiner Zermahlung des Getreides — kaum je Unkrautbeimengungen gefundon worden. Die Acidität ist sehr wechselnd, die Gährung wird fast stets durch Sauerteig bewirkt.

Diese Brote stellen in dem grössten Theil von Nord-, durchweg aber in Mittel- und Süddeutschland die Hauptvolksnahrung dar, ich habe deshalb auch besonders zahlreich solche Brote erhalten. Dass nicht alle Proben genauer untersucht sind, erklärt sich theils aus Ueberhäufung mit Material, theils daraus, dass weitere Untersuchungen unnütz erschienen. Diese Brotsorte wird in den Landbezirken in 6- bis 8-, in den Städten vorwiegend in 6-Pfund-Laiben, bald in länglicher, bald in runder Form hergestellt. Die verschiedensten Umbelliferenfrüchte dienen zur Würze, mir sind bisher: Anis, Coriander, Fenchel, Kümmel und Dill vorgekommen.

III. Weissbrote, d. h. Brote aus kleienfreiem Weizenmehl ohne oder mit Zuthat von Milch und Butter (Semmel). Hellgefärbte Brote in Deutschland meist nur die Rolle von Frühstücks- und Luxusbroten spielend, in Lothringen und der Schweiz nach französischem Vorbild aber die Hauptvolksnahrung darstellend. Die Acidität ist meist sehr gering, ausschliesslich dient Hefe und zwar sehr oft Presshefe zur Teiglockerung. Alle untersuchten Proben erwiesen sich als gut aufgegangen und fast stets auch gut ausgebacken, ich habe hierüber in den Tabellen keine näheren Bemerkungen gemacht.

I. Schrot-

Fortl. No.	Herkunft: Land	Herkunft: Ort	Bezeichnung	Alter in Tagen	Zermahlungsgrad	Aussehen
1	Rheinlande	Umgebung von Grevenbroich . (A. P)	Schwarzbrot aus Landdistricten	3	grob	fast porenfrei
2	»	Grevenbr. (188, K)	»	3	sehr grob	unrein; fast porenlos
3	»	»	»	ca. 2	»	
4	»	» (A)	»	2	ungenüg.	sehr dunkel, mit deutlich sichtbarer Kleie
5	»	» (B)	»	2	»	
6	»	» (C)	»	2	»	
7	»	» (D)	»	3	»	
8	»	» (E)	»	3	»	
9	»	» (F)	»	3	»	
10	»	Grevenbroich	»	3	»	
11	»	»	»	3	»	
12	»	»	»	c. 3	»	
13	»	»	Aus Uhlhorn's decorticirtem Getreide	3	gut gemahlen	ziemlich locker
14	»	»		3		
15	»	» (A.P.)		3		
16	»	»		0		
17	»	»		0		
18	»	Zülpich		7	ungenüg.	fast porenfrei
19	»	Crefeld	Pumpernickel	0	»	fast ohne Poren
20	Westphalen	Koesfeld	Süss-Pumpern.	7	schlecht	sehr dunkel, fast porenlos
21	»	»	Sauer- „	1,5	»	dunkelschwarz
22	»	Hagen	„ „	18	leidlich	dunkel; besser aufgegangen
23	»	Bochum	Dunkles Schwarzbrot	14	„	dunk., etw. porös
24	»	»	Helles Schwarzbrot	9	gut	grau, etw. porös
25	Hannover	Emden	Arbeiter-Schwarzbrot	9	leidlich	dunkel
26	Hamburg	Hamburg	Schwarzbrot	Unbek.	»	zieml. locker
27	»	»	Gemischtes Roggenmaisbr.	4	»	Poren sehr klein, Laib am Rande etwas knetschig
28	Brandenburg	Berlin (in Würzburg gekauft)	Sökeland's Delicatess-Pumpernickel	?	zieml. gut	Poren minimal
29	»	»			» »	
30	»	»			» „	

Brote.

Fortl. No.	Wassergehalt der Krume in %	Acidität für 100 g der Krume: Lackmus	Acidität für 100 g der Krume: Phenolph.	Acidität d. Trockensubstanz für 100 g der Krume Phenolph.	Monat	Unkrautgehalt	Bemerkungen
1	45,5	11,0	12,0	22,0	Februar	gering	
2	44,8	8,0	8,1	14,7	„	wenig Raden	
3	51,0	—	16,4	33,9	Novemb.	stark	
4	40,4	16,95	—	—	„	„	Geschmack strohig.
5	46,35	12,9	—	—	„	merklich	
6	47,5	20,1	—	—	„	„	
7	45,25	13,3	—	—	„	äusserst stark	
8	46,5	17,4	—	—	„	mittelmässig	
9	43,0	12,3	—	—	„	sehr stark	Geschmack strohig.
10	43,7	—	16,0	28,4	Mai	mässig	
11	44,9	—	15,5	28,1	„	„	
12	ca. 45	—	13,5	24,5	„	„	
13	53,0	—	16,4	35,0	October	„	Aus geschältem Roggen hergestellt.
14	54,7	—	6,2	13,7	„	gering	Aus geschält. Weizen hergestellt.
15	44,4	11,6	12,8	23,0	Februar	„	
16	43,2	—	14,0	24,6	Mai	„	
17	ca. 45	—	14,7	26,7	„	„	
18	43,4	6,9	10,7	18,6	Januar	relativ rein	
19	44,5	12,5	12,6	22,7	Februar	mäss. radenhalt.	
20	48,7	4,2	6,6	12,8	Januar	merklich	
21	49,5	10,7	14,4	27,9	„	mäss., viel Stroh	
22	39,6	8,6	12,5	20,7	„	mässig	
23	47,6	8,4	11,0	20,9	„	wenig Stroh	
24	43,8	9,1	11,2	19,9	„	Spuren	Nahrung d. Industriebevölkerung im Reg.-Bez. Düsseldorf und Arnsberg.
25	41,1	1,9	4,1	6,9	„	gering	Geschmack sehr fad. Ohne Sauerteig hergestellt.
26	—	—	—	—	Decemb.	nichts	Geschmack süsslich, etwas abweichend v. einem Roggenbrot, aber nicht unangenehm. Enthält auf 25 Pfd. Roggenmehl, 12½ Pfd. Maismehl, 3 Pfd. Weizenmehl.
27	42,1	—	10,5	18,2	Mai	wenig Unkraut	
28	36,5	—	23,6	37,1	?	kein Unkraut	Geschmack süssauer.
29	ca. 40	19,4	24,0	40,0	?		
30	42,1	12,5	20,8	35,9	Decemb.		

Fortl. No.	Herkunft: Land	Herkunft: Ort	Bezeichnung	Alter in Tagen	Zermahlungsgrad	Aussehen
31	Mecklenburg	Hagenow	Schwarzbrot	10	grob	fast porenlos; enthält Viertelskörner
32	Pommern	Stettin (Stadt)	Schrotbrot	9	gut	sehr locker
33	Ostpreussen	Sensburg	Schwarzbrot	—	ungenüg.	feinporig; Wasserstreifen
34	„	Angerburg	„	>4	grob	etwas porös
35	„	Gross-Schönau	Gesindebrot	>3	leidlich	kleinporig; sehr dunkel
36	„	„	„	>3	„	kleinporig; sehr dunkel
37	Westpreussen	Gross Brunau	Arbeiterbrot	—	„	zieml. porös
38	Sachsen	Leipzig	aus Steinmetz geschältem Roggenschrot	—		
39	Unterfranken	Würzburg	Kneipp's Klosterkraftbrot	?		grobes Schrot; locker
40	„	„	Grahambrot	0,5		locker
41	Schweiz	Zürich	„	9		locker; zieml. feines Schrot

II. Schwarz-

Fortl. No.	Herkunft: Land	Herkunft: Ort	Bezeichnung	Alter in Tagen	Aussehen
42	Rheinlande	Zülpich	Graubrot	>6	schlecht ausgebacken
43	„	Crefeld	„	ca.3	hell; gut ausgeback.
44	Hannover	Emden	„	—	hell; sehr locker
45	Mecklenburg	Hagenow	Roggenfeinbr.	13	kleine gleichmässige Poren; hellbraun
46	Pommern	Stettin (Stadt)	Graubrot	9	hellgrau, porös, ziemlich gut gebacken
47	„	„ „	„	8	hellgrau; gut aufgegang. u. ausgebacken
48	„	„ „	„	9	hellgrau; gut aufgegang. u. ausgebacken
49	„	„ „	Grobbrot	8	dunkles Graubrot
50	„	„ „	Kommissbrot	13	zieml. dunkel; porös
51	„	Kolbitzow b. Stett.	Grobbrot	15	„ „ „
52	„	Doppenphuhl, Kr. Pyritz	„	>2	hell; kleinporig; Mehlklümpchen
53	„	Kolbitzow b. Stett.	Weissbrot	13	grau; gut gebacken, feinporig
54	Brandenburg	Eberswalde	Schwarzbrot	9	grau
55	„	Angermünde	Landbrot	7	etwas dunkelgrau

Fortl. Nr.	Wasser-gehalt der Krume in %	Acidität für 100 g der Krume		Acidität d. Trockensubstanz für 100 g der Krume Phenolph.	Monat	Unkraut-gehalt	Bemerkungen
		Lackmus	Phenolph.				
31	41,6	9,6	12,8	21,9	Decemb.	wenig	
32	45,8	1,9	2,8	5,16	Januar	ohne Unkraut	Geschmack würzelos.
33	44,1	—	—	—	—	wenig	
34	42,5	10,9	14,4	25,04	Februar	sehr wenig; etwas Stroh	
35	42,9	12,1	—	—	Decemb.	sehr viel	
36	46,7	16,7	—	—	„	—	
37	—	—	—	—	„	gering	1 Th. Weizen, 1 Th. Roggen 1 Th. Gerste.
38	ca. 42	—	9,0	15,5	Mai		
39	ca 42	4,4	4,8	8,3	Januar		Schmeckt wie gutes Grahambrot. Etwas Unkraut enthaltend.
40	38,9	3,5	5,9	9,6	„		
41	40,0	3,0	8,0	5,0	„		

und Graubrote.

	Wasser-gehalt der Krume in %	Acidität für 100 g der Krume		Acidität d. Trockensubstanz für 100 g der Krume Phenolph.	Monat	Bemerkungen
		Lackmus	Phenolph.			
42	40,9	1,9	2,6	4,4	Januar	Geschmack fad.
43	35,6	2,6	2,9	4,5	„	
44	35,6	{ kaum sauer	1,9	2,9	„	⅔ Roggenmehl, ⅓ Weizenmehl, Hefe.
45	—	3,9	5,7	8,85	December	
46	38,4	3,6	4,6	7,4	Januar	
47	35,7	5,1	6,0	9,3	„	
48	33,5	5,0	5,6	8,4	„	
49	41,4	7,7	10,2	17,4	„	
50	46,1	7,6	9,1	16,9	„	Geschmack sandig, frei von Unkraut und grober Kleie.
51	38,1	6,0	7,6	12,3	„	
52	—	—	—	—	December	
53	38,5	4,4	5,1	8,3	Januar	Wenig Unkraut.
54	40,4	6,0	7,3	12,25	„	
55	43,2	5,2	6,8	11,9	„	

Fortl. No.	Herkunft: Land	Herkunft: Ort	Bezeichnung	Alter in Tagen	Aussehen
56	Ostpreussen	Angerburg	Graubrot	>4	dunkelgrau
57	„	Gross-Schönau	Brot für die Herrschaft	>3	gut aufgegangen u. gebacken; dunkelgrau
58	Westpreussen	Gross-Brunau	Graubrot	alt	hellfarbig, feinporig
59	Hessen-Nassau	Friedrichshaus.	Ländl. Schwzbr.	>2	sehr dunkel
60	„	Schreusa	„ „	>3	„
61	„	Geismar	„ „	>4	„
62	„	Häubern	„ „	>5	sehr dunkel; Wasserstreifen
63	„	„	„ „	>5	sehr dunkel
64	„	Birkenbruighausen	„ „	>5	sehr dunkel, Wasserstreifen
65	„	Ernsthausen	„ „	>5	„
66	Königreich Sachsen	Krimitschau Stdt.	Mischbrot	>14	hell; feinporig
67	„	„ „	Roggenbrot	12	„ „
68	„	„ Umgeg.	III. Qual. Landb.	11	grau; feinporig
69	„	„ „	II. „ „	9	hellgrau
70	Schlesien	Kreis Striegau	Herrschaftsbrot	>3	hell
71	„	„ „	Graubr v. Bäck.	>3	hellgrau; Poren sehr ungleich
72	„	„ „	Gesindebrot	>3	dunkelgrau; grosspor.
73	„	„ „	Brot für polnische Leute	>3	„ „
74	„	Kattowitz		>4	dunkel; kleinporig
75	„	„	Oberschls. Ldbr.	>4	„ „
76	„	„	Landbrot	>4	hellgrau; feinporig
77	„	Eichberg } Kreis Bunzlau	„	>4	hell: porös
78	„	Lorenzdorf	„	>4	einzelne Mehlklümpchen sichtbar
79	„	Holländer Windmühle	In der Mühle gebacken	>4	grau
80	„	Lichtenwaldau	Hausbrot	>4	dunkelgrau
81	„	Schlemermühle	In der Mühle gebacken	>4	hellgrau; feinporig
82	„	Neujaschwitz	Hausbacken aus einer Wirthsch.	>4	dunkelgrau
83	Unterfranken	Würzburg Stadt.	Schwarzbrot	1,5	grau; porös
83a	„	„ (dass. Br.)	„	3	„ „
84	„	„ „ „	„	19	„ „
85	„	„	„	1,5	„ „
86	„	„	Kommissbrot	31	grau; kleinporig
87	„	„	„	?	
87a	„	„	„	15	
88	„	„	Schweinfurt. Br.	0,5	grau; porös
89	„	„	Schwarzbrot	0,5	„ „
90	„	„	„	0,5	„ „

Fortl. Nr.	Wassergehalt der Krume in %	Acidität für 100 g der Krume		Acidität d. Trockensubstanz für 100 g der Krume Phenolph.	Monat	Bemerkungen
		Lackmus	Phenolph.			
56	34,0	4,7	7,0	10,6	Januar	
57	40,4	8,0	—	—	December	Enthält Dill.
58	—	—	—	—	„	Kein Unkraut.
59	38,2	12,0	13,4	21,7	Januar	Geschmack sandig.
60	40,6	9,6	10,9	18,3	„	
61	30,2	8,4	10,6	15,2	„	
62	28,9	8,8	9,7	13,6	„	
63	35,5	9,7	12,1	18,7	„	
64	28,5	7,7	8,8	18,3	„	
65	22,8	11,8	15,6	20,2	„	
66	36,3	7,2	—	—	October	½ Roggengangmehl, ¼ Weizenmehl, ¼ Gerstenmehl.
67	38,6	10,35	—	—	„	Roggenauszugmehl.
68	48,2	9,1	—	—	„	Roggenmehl } häufig wird etw. Gersten- od. Bohnenmehl zugesetzt.
69	44,7	7,8	—	—	„	Roggenmehl
70	trocken	7,9	—	—	December	Aus Roggenmehl II.
71	„	5,4	—	—	„	II. Qualität.
72	„	8,9	—	—	„	
73	„	9,9	—	—	„	
74				—	„	4 Th. Roggen auf 3 Th. Weizen.
75	Zu näherer Untersuchung waren die Proben zu alt und zu klein			—	„	1 Th. Roggen auf 1 Th. Weizen.
76				—	„	Aus reinem Roggen; wird in die Stadt gebracht.
77				—	„	Fabrikat einer Mühle; Geschmack etwas bitter.
78				—	„	
79				—	„	Wird wagenweise in die Stadt gebracht
80				—	„	Etwas kleiehaltig; Geschmack etwas sandig.
81				—	„	Wird wagenweise in die Stadt gebracht.
82				—	„	
83	45,0	5,05	5,9	10,7	„	
83a	42,0	5,2	6,3	10,9	„	
84	34,8	5,56	7,4	11,35	„	
85	36,4	6,1	8,5	13,4	Januar	
86	41,3	6,0	8,5	14,5	?	
87	—	8,8	11,8	19,7	?	
87a	ca. 40	—	16,0	26,7	„	
88	47,7	4,2	7,0	13,4	„	
89	46,4	4,8	6,8	12,7	„	
90	45,0	7,7	10,6	19,3	„	

Fortl. No.	Herkunft		Bezeichnung	Alter in Tagen	Aussehen
	Land	Ort			
91	Unterfranken	Würzburg	Schwarzbrot	1,5	grau; porös
92	„	„	„	1,5	grau; wenig. porös
93	„	„	„	1	grau; porös
94	„	„	„	3	„ „
95	„	„	„	3	etwas knetschig
96	„	„	„	1	stark „
97	„	„	„	—	grau; porös
98	„	„	„	frisch	„ „
99	„	„	„	ca. 5	„ „
100	„	„	„	—	„ „
101	„	„	„	—	„ „
102	„	„	„	—	„ „
103	„	„	„	—	„ „
104	„	„	„	—	„ „
105	„	„	„	—	„ „
106	„	„	„	0,5	„ „
107	„	„	Malzbr (D. R.-P.)	1	grau; sehr lock.; por.
108	„	Veitshöchheim bei Würzb.	Schwarzbrot	1—2	hellere und dunklere Graubrote
109	„	„	„	1—2	
110	„	„	„	1—2	
111	„	„	„	1—2	
112	„	Margetshöchheim b Würzb.	„	1—2	hellere und dunklere Graubrote
113	„	„	„	1—2	
114	„	„	„	1—2	
115	„	Lengfeld b. Würzb.	„	> 2	dunkelgrau
116	„	Rothkreuzhof „	„	—	sehr dunkel; wenig aufgegangen
117	„	Schaippach b. Gemünd.	„	ca. 3	knetschig
118	„	„ „	„	ca. 3	schwarz
119	Niederbayern	Aus einem Kloster	„	> 2	dunkelgrau
120	„	„ „ „	„	> 2	hellgrau
121	„	„ „ „	Landbrot	> 2	dunkelgrau; etwas knetschig
122	Oberbayern	Rauber's Brotfabrik München	schwrz. Kornbr.	1	dunkelgrau
123	„		„ „	> 2	„
124	„		halbweis. „	1	hellgrau
125	„		„ „	> 4	„
126	„		weis. Kornbr. II	1	fast weiss
127	„		„ „ II	> 3	„ „
128	„		„ „ I	1	weiss
129	Baden	Bräunlingen bei Donaueschingen	schwarz Hausbr. a Mischelfrucht	ca. 3	Kuchenform unregelmässig aufgeg
130	Lothringen	Metz	Schwarzbrot	> 5	hellgrau
131	Schweiz	Zürich (Stadt)	„	8	grau
132	„	Schlieren b. Zürich	Landbrot	5	„

Fortl. Nr.	Wassergehalt der Krume in %	Acidität für 100 g der Krume Lakmus	Acidität für 100 g der Krume Phenolph	Acidität d. Trockensubstanz für 100 g der Krume Phenolph.	Monat	Bemerkungen
91	44,0	4,9	7,4	13,2	Januar	
92	46,2	6,5	8,5	15,8	"	
93	46,2	6,7	9,1	16,9	"	
94	42,9	6,4	8,0	14,0	"	
95	47,6	5,5	7,6	14,5	"	
96	45,6	5,2	7,2	13,05	"	wegen schlechten Geschmackes eingeliefert.
97	ca. 40	2,3	4,6	7,7	?	
98	ca. 42	4,2	9,6	16,6	?	
99	ca. 38	1,9	4,5	7,26	?	
100	ca. 42	6,5	11,7	20,2	Juli	
101	ca. 42	13,9	16,0	27,6	"	
102	ca. 42	6,8	9,35	16,12	"	
103	ca. 42	11,8	13,35	23,0	"	
104	ca. 42	8,4	10,6	18,27	"	
105	ca. 42	7,6	10,8	18,62	"	
106	ca. 42	8,5	12,4	21,38	"	
107	43,7	1,7	2,4	4,2	Januar	
108		7,8	10,7	18,4		
109		6,3	8,1	14,0		
110		7,7	9,5	16,4		
111	ca. 42	7,5	9,7	16,7	Juli	
112		11,8	15,4	26,6		
113		5,1	8,8	15,2		
114		8,7	11,6	20,0		
115	41,0	9,6	13,8	23,4	Februar	Enthält Kümmel.
116	46,1	12,5	15,6	28,94	Januar	Auffallend stark sauer; nach Angabe des Herstellers missglückt.
117	44,7	kaum sauer	3,1	5,6	Februar	Geschmack fad, unangenehm; scheint beim Backen verunglückt. Zugehör. Mehl ist voller Schimmelpilze.
118	43,7	8,3	10,4	18,5	"	
119	45,8	7,7	10,1	18,5	März	
120	42,0	5,4	7,0	12,1	"	
121	46,8	9,0	10,5	19,1	"	Enthält Fenchel u. Coriander. Flacher Kuchen.
122	ca. 42	—	11,0	18,9	April	
123	c. 49,7	—	10,7	21,2	Mai	
124	ca. 42	—	9,8	16,9	April	
125	14,7	—	8,5	9,9	Mai	
126	ca. 42	—	6,4	11,0	"	
127	32,0	—	7,0	10,3	April	
128	ca. 42	—	5,9	10,2	Mai	
129	46,0	—	13,9	25,7	Mai	
130	40,0	3,7	4,4	7,3	März	
131	39,6	3,4	4,0	6,6	Januar	
132	38,6	kaum sauer	3,3	5,4	Januar	

III. Weissbrote.

Fortl. Nr.	Herkunft		Bezeichnung	Alter in Tagen	Wassergehalt der Krume in %	Acidität der Krume		Acidität der Trockensubst. Phenolph.	Jahreszeit
	Land	Ort				Lackmus	Phe-.nolph.		
133	Rheinlande	Crefeld	Weissbrot	ca. 5	33,0	1,2	1,4	21,21	Januar
134	Westphalen	Crefeld b. Münster	„	1,5	42,0	0,8	1,8	31,31	Januar
135	Hannover	Emden	„	6	ca.42,0	kaum sauer	2,1	3,6	Januar
136	Sachsen	Crimitschau	Zwieback	—	ca. 5,0	2,3	—	—	Oktober
137	Pommern	Stettin (Stadt)	Weissbrot	9	35,5	1,6	1,8	2,8	Januar
138	„	„	„	10	38,7	1,1	2,2	3,6	„
139	Unterfranken	Würzburg	Semmel	ca. 1	ca. 30	1,0	2,0	2,9	November
140	„	„	„	ca. 1	ca. 30	1,8	3,4	4,9	November
141	„	„	„	ca. 6	ca. 20	1,8	3,9	4,9	November
142	„	„	„	6	30,3	1,95	3,7	4,4	November
143	„	„	Mundbrot	6,5	19,4	2,1	3,1	3,8	November
144	„	„	Semmel	0,5	31,4	1,4	2,5	3,7	November
145	„	„	„	1,5	39,8	1,1	2,5	4,2	November
146	„	„	„	0,5	42,3	1,4	1,8	3,1	November
147	„	„	Milchbrötchen	ca. 1	31,9	—	5,5	8,1	November
148	„	„	Herdbrötchen (butterhaltig)	ca. 1	21,2	—	5,2	6,6	Nicht notirt
149	„	„	Weissbrotweck (ohne Milch)	ca. 1	28,9	—	4,8	6,8	Nicht notirt

150	Unterfranken	Versbach bei Würzburg	Wassersemmel	ca. 1	ca. 30%	2,9	3,2	4,6	Nicht notirt
151	„	„	„			2,3	2,6	5,1	Juli
152	„	„	„			3,1	3,3	4,7	
153	„	„	„			1,9	3,0	4,3	
154	„	„	„			3,6	5,6	8,0	
155	„	Zell bei Würzburg	Milchsemmel	ca. 1	ca. 30%	2,5	3,9	5,6	
156	„	„	„			3,2	3,7	5,3	
157	„	„	„			2,8	3,3	4,7	
158	„	„	„			1,7	3,3	4,7	
159	„	„	„			3,4	5,2	7,4	
160	„	„	„			3,4	5,2	7,4	
161	Oberbayern	München	Rauber's Weissbrot	ca. 1	ca. 40	—	5,9	9,8	Ende Mai
162	„	„	„	ca. 4	32	—	7,0	10,3	April
163	Schweiz	Zürich	Weissbrot	6	39,5	kaum sauer	1,4	2,3	Mai
	„	„	„	5—6	ca. 40	„	2,5	4,2	
164	„	„	Modelbrot[1])	7	39,0	„	1,9	3,1	
165	„	„	Mittelbrot[2])	5—6	ca. 40	„	3,0	5,0	
166	„	„	„	6	38,2	„	1,9	3,1	
167	„	„	„	5	41,2	„	1,4	2,4	

1) Mit Milch bereitet in einer Form »Modell« gebacken.

2) Mittelbrote sind sehr hellgraue Brote aus billigeren Weizenmehlsorten.

4. Practische Schlussfolgerungen.

Es handelt sich nun darum, aus dem in den Tabellen niedergelegten Material einige allgemeine Schlüsse abzuleiten.

Bei der Prüfung von Broten mit dem Geschmackssinn lässt sich der Säuregehalt nach einiger Uebung sehr gut abschätzen. Auf Grund vielfacher Versuche an mir und Anderen schlage ich vor ein Brot zu nennen, wenn 100 g frische Krume verbrauchen (Indicator Phenolphthaleïn) zur Neutralisirung

1	bis	2	ccm	Normalalkali		nicht sauer,
2	«	4	«	«		schwach säuerlich,
4	«	7	«	«		schwach sauer,
7	«	10	«	«		kräftig sauer,
10	«	15	«	«		stark sauer,
15	«	20	«	«		äusserst stark sauer.

Die folgende Tabelle zeigt, welche Säuregrade bei den einzelnen Brotsorten am häufigsten beobachtet werden:

Acidität	Schrotbrote	Schwarz- und Graubrote aus Mehl	Weissbrote und Semmel
	Proben	Proben	Proben
1—2	—	1	9
2—4	2	7	17
4—7	5	19	9
7—10	12	26	—
10—15	17	21	—
über 15	11	6	—
Summa	37	80	35

Unverkennbar zeigt sich aus dieser Tabelle, wie viel häufiger saure Brote bei den Schrotbroten vorkommen als bei den übrigen Roggen- und Weizen-Roggenbroten und wie die hohen Säuregehalte bei den Weissbroten ganz fehlen. Noch viel deutlicher und instructiver werden aber die Resultate, wenn wir sie procentisch ausdrücken.

Es betrug die Acidität in % der untersuchten Proben:

Acidität	Schrotbrote	Schwarz- und Graubrote	Weissbrote und Semmel
1—2	—	1,0	26,0
2—4	5,5	9,0	48,0
4—7	13,0	24,0	26,0
7—10	5,5	32,5	—
10—15	46,0	26,0	—
über 15	30,0	7,5	—

Deutlich zeigen diese Tabellen, dass man aus jeder Art Mehl annähernd säurefreie Gebäcke bereiten kann, es kann also nicht etwa am Mehl an sich liegen, dass die Roggenbrote in der Regel soviel saurer sind als die Weizenbrote.

Noch sind meine Studien und Erfahrungen nicht weit genug gediehen, um in jedem Einzelfall erklären zu können, warum das vorgelegte Brot einen hohen oder niedrigen Säuregehalt hat. Immerhin kann ich doch schon einige Resultate mittheilen und behalte mir weitere Angaben in dieser Richtung vor.

Alle mit reiner Hefe bereiteten Brote haben einen niederen oder sehr niederen Säuregehalt. Die Lockerung geht hier so rasch, dass die relativ spärlich vorhandenen Säurebacterien gar nicht Zeit haben, wesentlich Säure zu bilden. Hierher gehört von den Schrotbroten das Grahambrot, von den Roggenmehlbroten Nr. 29 das Bräunlinger Hausbrot und alle Weissbrote. Durch Anwendung unreiner Hefe, säuernder Milch, ranziger Butter oder zu lange Gährdauer wird auch Hefebrot etwas sauer.

Alle mit Sauerteig bereiteten Brote sind sauer, und zwar konnte einmal — dies ist noch nicht näher untersucht — die Art des Sauerteigs resp. der darin enthaltenen Bacterien von Einfluss nicht nur auf Säureart, sondern auch die Säuremenge sein, zweitens spielt die Gährungsdauer und die Temperatur eine höchst wichtige Rolle.

Ueber den Einfluss der Gährungsdauer liegen die beiden eingangs citirten Angaben von Gräger vor, ich beabsichtige im Folgenden an einigen Beispielen den Einfluss von Gährungsdauer und Temperatur zu beweisen.

Die Herstellung des gewöhnlichen Würzburger Graubrots beschrieb mir Herr Bäckermeister Neuland, der uns bei unseren Brotarbeiten fortwährend in entgegenkommenster Weise unterstützte, folgendermaassen:

Zu 2 bis 3 Pfund Sauerteig, dessen Herkunft wir sofort noch kennen lernen, werden zwischen 12 und 1 Uhr mittags 3 bis 4 l warmes Wasser und 10 Pfund Mehl eingetragen, was eine dünnflüssige Masse liefert. Die Masse bleibt an einem warmen Orte stehen bis abends 8 Uhr. Jetzt fügt man 10 bis 11 l warmes Wasser und 35 bis 40 Pfund Mehl hinzu und zerrührt wieder gut. Um 3 Uhr früh wird gemehrt, d. h. es kommen nun 35 l Wasser und 35 Pfund Mehl hinzu und wieder wird für gute Mischung Sorge getragen. Hat dieser Vorteig bis morgens 7 Uhr gestanden, so kommt er nun bis auf 2 bis 3 Pfund, die im Sauerkübel zurückbleiben, in den Backtrog, wird dort mit 75 Pfund Mehl durchgeknetet und bedeckt 1 Stunde gehen lassen. Um 8 Uhr wird der Teig in Portionen getheilt, in Körbchen gelegt und nochmals 1 bis 1½ Stunden gehen lassen, in der Zwischenzeit wird noch einmal durchgeknetet (gewirkt), um 9 Uhr etwa wird mit dem Backen begonnen, wodurch in normalen Fällen eine sichere Sterilisirung des Brotes erreicht wird. Die 2 bis 3 Pfund, die im Sauerkübel zurückbleiben, werden an einem warmen Ort bis Mittag stehen lassen und bilden dann als Sauerteig den Ausgangspunkt für die neue Teigportion. — Eine Hauptsache bleibt für den praktischen Bäcker die richtige Regulirung der Wärme, bei der die Gährung vor sich geht — je nach der Intensität der Gährung wird kühleres oder wärmeres Wasser verwendet.

Im Anschluss an diese für Würzburg normale Brotbereitung, folgen nun meine Versuche über den Einfluss der Dauer der Gährung mit Sauerteig.

Es ergaben vier Teigproben folgende Säurezahlen — als Indicator ist leider noch Lackmus gewählt.

1) Von Herrn Neuland aus ⅔ Roggen N 00 und N 1 und ⅓ Weizen No. IV und V, das heisst aus ⅔ feinem Roggenmehl und ⅓ geringem Weizenmehl hergestellt.

Versuch XII. (1 IV. 92).

		100 g Teig verbrauchen Normallauge
Probe I.	$2^1/_2$ Stunden, nachdem das Mehl zum Vorteig gesetzt wurde	6,8
» II.	$3^1/_2$ » » » » » » » »	7,5
» III.	$4^1/_2$ » » » » » » » »	8,7
	Probe III hatte, nachdem sie $4^1/_2$ Stunden in der Backstube gegohren, noch $6^1/_2$ Stunden bei ca. $+ 5^0$ gestanden.	
» IV.	$4^1/_2$ » nachdem das Mehl zum Vorteig gesetzt war in der Backstube, dann $6^1/_2$ Stunden bei $+ 5^0$, dann die Nacht über bei ca. 13^0.	9,5

Schlagender sind noch folgende Resultate (13. VI. 92):

Versuch XIII.

Es wurde Brot gebacken aus dem gleichen Teig, der Teig bleibt während des Versuchs in der Backstube.

		100 g Brotkrume verbrauchen Normallauge Indicator Phenolphth.
I. Nachdem der Teig	$2^1/_2$ Stunden gestanden	11,5 ccm
II. » » »	$2^1/_2 + 24$ » »	24,0 »
III. » » »	$2^1/_2 + 48$ » »	26,5 »

Aehnliche Resultate wurden erhalten (4. Juli 1892)

Versuch XIV.

		100 g verbrauchen Normallauge Indicator Phenolphthaleïn
I. Brot mit Sauerteig	$2^1/_2$ Stunden gegohren	12,7
II. » » »	$2^1/_2 + 24$ » »	20,0

Durch diese Resultate erklärt sich in der einfachsten Weise als eine Hauptursache des hohen Säuregehaltes der ländlichen Schrot-, Schwarz- und Graubrote durch zu lang dauernde Gährung unter Anwendung von Sauerteig.

Der Einfluss der Temperatur auf die Säurebildung bedarf nach all dem was wir über die Säuerung der Milch wissen, kaum einer besonderen experimentellen Bearbeitung (vgl. übrigens S. 408). Deutlich genug zeigen meine oben mitgetheilten Uebersichtstabellen den Temperatureinfluss in der grösseren Acidität des Brotes der gleichen Gegend im Sommer als im Winter. So zeigen die Analysen 139 bis 146 für den Winter einen Aciditätsgrad von 2,9 bis 4,9 für Würzburger Semmel, die Analysen 150 bis 160 im Juli einen Aciditätsgrad von 4,3 bis 8,0. — Aehnlich waren die Graubrote in Würzburg Nr. 83 bis Nr. 96 im Winter von der Acidität 5,9 bis 10,6, wogegen im Juli 9,35 bis 16 beobachtet wurde. Also sowohl die mit Hefe (mit und ohne Milch)

und Weizenmehl, wie die mit Sauerteig und Roggenmehl bereiteten Gebäcke sind im Sommer saurer wie im Winter.

Nicht vollkommen klar ist mir zur Zeit noch, warum unter den norddeutschen Schrotbroten sich neben intensiv sauren auch ganz wenig saure finden. Es werden zwar vielfach Schrotbrote mit Wasser allein ohne jeden Hefe- oder Sauerteigzusatz hergestellt, solche Teige säuern aber auch stark, wenn sie längere Zeit oder bei höherer Temperatur stehen. Säurearme Schrotbrote sind also entweder mit Hefe bereitet oder überhaupt kaum gegohren. Der hohe Zuckergehalt mancher süssen Pumpernickel kommt durch Verwendung heissen Wassers bei der Teigbereitung zu Stande. Bei hoher Temperatur wirkt das diastatische Ferment des Mehles sehr rasch. Auch hierüber sind weitere Versuche gemacht und projectirt, vergl. auch Günther l. c.

Um mich über die Säuregährung von Mehl- und Wassermischungen bei verschiedenen Temperaturen zu orientiren, sind folgende Versuchsreihen angestellt.

I. Versuchsreihe.

50 g Weizen-Schrotmehl + 40 g Wasser zu steifem Teig gerührt. Werthe auf 100 g Mehl und Normalnatronlauge umgerechnet.

Proben bei 34°			Proben bei 12—16°		
	Aufgegangensein	Acidität		Aufgegangensein	Acidität
Sofort		2,6	Sofort		2,6
Nach 6h	nicht merklich	5,1	Nach 6h	nicht merklich	3,1
Nach 24h	sehr gut	25,0 starker Buttersäuregeruch	Nach 24h	ein wenig	7,5 schwacher Buttersäureger.
Nach 48h	sehr gut	41,0 starker Buttersäuregeruch	Nach 48h	sehr gut	11,5 starker Buttersäuregeruch

II. Versuchsreihe.

Feinstes Weizenmehl aus dem gleichen Weizen von dem das Schrotmehl stammt. 50 g Mehl mit 40 g Wasser zu steifem Teig gerührt. Werthe auf 100 g Mehl und Normalnatronlauge umgerechnet.

Proben bei 34°			Proben bei 12—16°		
Zeit	Aufgegangensein	Acidität	Zeit	Aufgegangensein	Acidität
Sofort		2,0	Sofort		2,0
Nach 6h		2,3	Nach 6h		2,1
Nach 24h	sehr gut	7,5	Nach 24h	wenig	2,3
			Nach 48h	wenig	4,5

Kein deutlicher Buttersäuregeruch.

Die Tabelle zeigt in überraschender Weise, wie viel rascher und intensiver Schrotmehlteige gähren und säuern als Feinmehlteige, warum dies der Fall ist, wird in meinem Institut soeben weiter untersucht. Soviel ist jetzt schon zu sagen, dass Zusatz von 1/2 % Maltose zum Feinmehl ihm noch nicht die Eigenschaft des Schrotmehles ertheilt, rasch und unter Buttersäureentwickelung zu säuern.

Die Frage, welche Säuregehalte vom hygienischen Standpunkt wünschenswerth seien, wird den Gegenstand meiner vierten Mittheilung bilden.

